

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
дополнительного профессионального образования «Российская медицинская
академия непрерывного профессионального образования»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Ушарова Светлана Александровна

**ОККЛЮЗИИ ВЕН СЕТЧАТКИ: МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ
ПАТОГЕНЕЗА И ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ**

3.1.5. Офтальмология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Мошетьова Лариса Константиновна,
доктор медицинских наук, профессор,
академик Российской академии наук

Научный консультант:
Сабурина Ирина Николаевна,
доктор биологических наук

Москва – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1. Современное представление об эпидемиологии окклюзии ретинальных вен	13
1.2. Этиопатогенез и факторы риска окклюзии вен сетчатки	15
1.3. Осложнения окклюзии ретинальных вен	19
1.4. МикроРНК	20
1.5. Белки теплового шока	26
1.6. Белки семейства S100A	31
Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	35
2.1. Общая характеристика исследуемой группы пациентов	35
2.2. Методы обследования пациентов	36
2.2.1. Стандартные офтальмологические методы обследования	36
2.2.2. Сбор данных анамнеза и клинико-диагностических заключений	37
2.2.3. Специальные офтальмологические методы обследования	37
2.3. Методики забора биоматериала для молекулярных исследований	39
2.3.1. Методика забора образцов сыворотки крови пациентов	39
2.3.2. Методика забора образцов слезы пациентов	40
2.4. Молекулярные исследования	40
2.4.1. Протеомное исследование	40
2.4.2. Выделение микроРНК с помощью ПЦР-исследования	42
2.5. Статистические методы обработки результатов исследования	44
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	46
3.1. Взаимосвязь особенностей клинического течения окклюзии ретинальных вен и уровней miR-126, miR-155, miR-21 в крови и белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9 в слезной жидкости	46
3.1.1. Сравнение основной и контрольной групп с целью выявления взаимосвязи между уровнем miR-126, miR-155, miR-21 в крови, белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9 в слезной жидкости и ОВС, а также определения основных факторов риска окклюзии ретинальных вен	46
3.1.2. Определение взаимосвязи между уровнем miR-126, miR-155, miR-21 в крови, белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9 в слезной жидкости и типом локализации ОВС (центральная вена сетчатки или ее ветви) с изучением особенностей клинического течения	55
3.1.3. Оценка специфики клинических проявлений ОВС в зависимости от типа окклюзии (ишемический, неишемический) с определением корреляции с уровнем miR-126, miR-155, miR-21 в крови и белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9 в слезной жидкости	62
3.2. Оценка динамики зрительных функций у пациентов с окклюзией ретинальных вен, выявление корреляции между уровнем miR-126, miR-155, miR-21 в крови, белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9 в слезной жидкости и остротой зрения в разные временные промежутки, а также обозначение факторов, оказывающих определяющее влияние на остроту зрения	68

3.3. Анализ динамики показателей miR-126, miR-155, miR-21 в крови и клинических характеристик в зависимости от типа ОВС (ишемический, неишемический) во временном интервале 6 месяцев.....	72
3.4. Выявление основных факторов риска, определяющих негативные прогностические перспективы течения окклюзии ретинальных вен	82
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	90
ВЫВОДЫ.....	93
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	94
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	95
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	96

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Проблема диагностики и лечения заболеваний, связанных с нарушением кровообращения в сосудах сетчатки, в современных реалиях становится все более актуальной в связи с увеличением роста сердечно-сосудистых заболеваний, являющихся наиболее частой причиной возникновения данной патологии. Окклюзия ретинальных вен представляет собой тяжелое сосудистое заболевание, характеризующееся нарушением кровотока в венозном русле сетчатки в результате тромбоза [25].

Окклюзия вен сетчатки (ОВС) обладает достаточно широкой распространенностью, которая у пациентов в возрасте старше 40 лет составляет 4,40 на 1000 человек [3]. Предполагается, что более 16 миллионов человек страдает окклюзионными поражениями ретинальных вен, а средний возраст пациентов, сталкивающихся с данной проблемой, варьируется от 55 до 77 лет [121]. В основе патогенеза ретинальной венозной окклюзии лежат системные сосудистые изменения, встречающиеся при таких заболеваниях, как гипертоническая болезнь, атеросклероз, сахарный диабет и др. [50]. Тенденции развития современной медицинской науки направлены на выявление маркёров заболевания на молекулярном уровне, приводящее к более быстрой, точной и персонализированной диагностике, что, в свою очередь, повышает эффективность лечения и улучшает прогноз. Установлено, что изменения уровня определенных микроРНК указывают на наличие гипертонической болезни и развитого атеросклероза, прогрессирование которого можно оценить по изменению ряда белков теплового шока, а развивающиеся на фоне атеросклероза сосудистые нарушения в тканях головного мозга можно определить по увеличению ряда кальций-связывающих белков [12, 32, 62, 126]. Несмотря на значительные успехи, достигнутые к настоящему времени в диагностике и лечении ретинальных сосудистых катастроф, число пациентов с окклюзией вен сетчатки продолжает расти, а также наблюдается тенденция к «омоложению» заболевания, что говорит о необходимости дальнейшего изучения особенностей патогенеза, клинического течения и профилактики ОВС и обуславливает высокую значимость и актуальность настоящей диссертационной работы.

Степень разработанности темы

В ранее опубликованных работах сообщается о том, что в развитии окклюзии венозных сосудов принимают участие факторы свертывания, а также провоспалительные и ангиогенные факторы [2]. Все они тесно связаны друг с другом, формируют порочный круг и могут выступать в качестве потенциальных биомаркеров состояния, связанного с нарушением кровообращения в венозных сосудах.

Наиболее доступной и распространенной жидкостью, используемой для оценки изменений со стороны провоспалительных и ангиогенных факторов, а также факторов свертываний является сыворотка крови. Существует ряд исследований, в которых рассматривались различные изменения сыворотки крови у пациентов с окклюзией ретинальных вен, большинство из которых весьма доказательны. Однако самой информативной биологической средой, отражающей процессы, протекающие в сосудистой системе глаза и содержащей наиболее чувствительные для диагностики заболеваний показатели, является слезная жидкость. Установлено, что при ретинальной венозной окклюзии наблюдается повышение индекса коагуляции, снижение фибринолитической активности и повышение активности $\alpha 2$ -макроглобулина в слезе [16], увеличение концентрации VEGF-A, ET-1 (как в слезе, так и в сыворотке крови), IL-1, IL-6, а и TNF-a [30], а также плазминогена и антитромбина III, что является проявлением компенсаторных процессов, препятствующих дальнейшему тромбообразованию [17, 31]. Уровень D-димера в слезе у пациентов с окклюзией ретинальных вен существенно повышен, что доказывает воспалительную реакцию на тромбообразование и появление белков острой фазы – фибриногена и фибрина [15]. Несмотря на многочисленные исследования, посвященные подробному анализу состава слезы при ретинальной венозной окклюзии, роли белков теплового шока и кальций-связывающих белков, а также их уровни в слезе и крови при данной патологии остаются на сегодняшний день неизвестными.

Резкое нарушение кровообращения в ретинальных венах является значимым потрясением как для глаза, так и для организма в целом. В ответ на любое стрессо-

вое воздействие усиливается выработка белков теплового шока (HSP) или так называемых стресс-белков. Проведено множество исследований, подтверждающих повышения белков теплового шока (в большинстве случаев HSP 60 и HSP 70) у пациентов с системными сосудистыми патологиями, а также с заболеваниями органа зрения, в основе которых лежат те или иные нарушения кровообращения [73, 85, 120, 140, 141]. Кроме того, известно, что HSP 70 присутствуют в сыворотке крови условно здоровых пациентов с повышенным риском заболеваний периферических сосудов (HSP 70) [73], а также увеличение данных стресс-белков наблюдается в момент ишемии и в период реперфузии [38].

В настоящее время активно исследуется возможность использования микроРНК в качестве биомаркеров при диагностике широкого спектра заболеваний. МикроРНК – некодирующие РНК с одной цепью длиной от 16 до 27 нуклеотидов, участвующие в различных физиологических и патологических процессах [64]. Экспрессия микроРНК контролируется различными механизмами, включая метилирование ДНК и гистонов, которое изменяется при развитии различных патологических состояний [12]. Доказано, что при атеросклерозе повышен уровень miR-122, miR-21, miR-130a и miR-211c и снижен miR-92a, miR-222, и miR-126 [13], при ишемическом инфаркте миокарда резко снижается уровень miR-375 [43], установлена важная роль miR-126, miR-155, miR-146a, miR-27a miR-145 в защите сосудистого эндотелия. Также известно, что ряд микроРНК (например, miR-155, miR-21) значительно увеличиваются в плазме крови при влажной форме возрастной макулярной дегенерации, искусственно индуцированных ретинальных дегенерациях, а также диабетической ретинопатии [84, 108, 123, 143].

Еще одним фактором, сигнализирующим о развитии ишемии и наличии нейродегенеративного процесса являются белки семейства S100A. Данные кальций-связывающие белки участвуют в клеточном иммунитете, являются белкам острой фазы, а также маркерами хронической ишемии [21, 126]. Группой ученых из Соединённых Штатов Америки было доказано, что белки S100A8 и S100A9 увеличиваются при влажной форме возрастной макулярной дегенерации, а увеличение

белка S100A12 было обнаружено при искусственно индуцированной ОВС на животной модели [48, 148].

Таким образом, изучение роли молекулярных механизмов патогенеза и связанных с ними особенностей клинического течения окклюзии ретинальных вен с последующим формированием персонализированного подхода к профилактике и диагностике данного заболевания является актуальным и перспективным вопросом современной офтальмологии.

В связи с этим **целью** исследования является персонализация диагностики и профилактики ретинальных венозных окклюзий на основе изучения молекулярных механизмов патогенеза заболевания.

Соответственно цели сформулированы следующие **задачи** исследования:

1. Определить взаимосвязи между различными типами, стадиями, локализациями венозных окклюзий сетчатки и уровнями белка HSP70, белков семейства S100A в слезной жидкости, а также miR-21, miR-155 и miR-126 в сыворотке крови.

2. Установить наличие корреляционных связей между показателями зрительных функций пациентов с окклюзией ретинальных вен и уровнем белка HSP70, белков семейства S100A в слезной жидкости, а также miR-21, miR-155 и miR-126 в сыворотке крови.

3. Провести оценку динамики показателей miR-21, miR-155 и miR-126 в сыворотке крови во временном интервале 6 месяцев при разных типах окклюзии вен сетчатки.

4. Выявить основные факторы риска, определяющие негативные прогностические перспективы течения ретинальной венозной окклюзии.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Установлено, что окклюзия ретинальных вен в острый период патологического процесса характеризуется статистически значимым увеличением показателей miR-21 в сыворотке крови, белков S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина в слезной жидкости, уменьшением показателей miR-155 в сыворотке крови, бета-2-микроглобулина в слезной жидкости и снижением показателей miR-155, miR-126 в сыворотке крови через полгода после венозной окклюзии сетчатки. Доказанные

корреляционные связи между наличием окклюзии ретинальных вен и изменением уровня данных молекулярных агентов обосновывает использование их в качестве диагностических маркеров ретинальной венозной окклюзии.

2. Выявлено, что в течение 6 месяцев после острой ретинальной венозной окклюзии значения уровней miR-126 и miR-21 снижаются в сыворотке крови у пациентов вне зависимости от ишемического или неишемического типа окклюзии, а для ишемического типа окклюзии характерно уменьшение всех исследуемых микроРНК: miR-126, miR-21, miR-155. Таким образом, оценка уровней микроРНК и наличие данных об их динамических изменениях в течении ретинальной венозной окклюзии позволяет использовать уровни микроРНК в качестве прогностических маркеров снижения или повышения активности патологического процесса.

3. Определено, что наиболее высокий риск отсутствия улучшения остроты зрения через полгода после острой ретинальной венозной окклюзии наблюдается у пациентов с комбинацией на момент поступления следующих факторов: $miR-126 \geq 1,8$ и площадь аваскулярной зоны $< 0,1 \text{ мм}^2$. Выявленная взаимосвязь обосновывает возможность использования miR-126 в комбинации с другими показателями как прогностический маркер тяжести течения патологического процесса.

Научная новизна

Сформулирована научная идея использования фармакогенетического тестирования уровней miR-155, miR-21, miR-126 в сыворотке крови и белков S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина и бета-2-микроглобулина в слезной жидкости для повышения точности диагностики и построения прогноза течения ретинальной венозной окклюзии.

Впервые выявлена корреляция между развитием окклюзии вен сетчатки и изменением уровня miR-155, miR-21, miR-126 в сыворотке крови и белков S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина и бета-2-микроглобулина в слезной жидкости.

Доказано отсутствие взаимосвязей между локализацией, типом ретинальной венозной окклюзии и уровнем miR-155, miR-21, miR-126 в сыворотке крови и белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина и бета-2-микроглобулина в слезной жидкости.

Установлено, что динамика зрительных функций не связана с уровнем miR-126, miR-155, miR-21 в сыворотке крови и белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина, бета-2-микроглобулина в слезной жидкости.

Выявлено статистически значимое уменьшение показателей miR-126 и miR-21 в сыворотке крови при неишемической окклюзии вен сетчатки и miR-155, miR-21, miR-126 в сыворотке крови при ишемическом типе окклюзии во временном интервале 6 месяцев.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость работы заключается в том, что в ходе исследования впервые определена роль miR-155, miR-21, miR-126, определяемых в сыворотке крови, и белков S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина и бета-2-микроглобулина, определяемых в слезной жидкости, у пациентов с ретинальной венозной окклюзией, что обосновывает доказательство бесспорного влияния данных молекулярных агентов на развитие и течение патологического процесса.

Впервые установлено, что уровень miR-155, miR-21, miR-126 в сыворотке крови и белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина и бета-2-микроглобулина в слезной жидкости не связан ни с типом, ни с локализацией венозной окклюзии. Также впервые была определена динамическая изменчивость значений микроРНК при разных типах окклюзии в течение 6 месяцев, что говорит о высокой активности микроРНК в острую фазу патологического процесса.

Практическая значимость результатов диссертационной работы обоснована тем, что выявленная взаимосвязь между уровнем miR-155, miR-21, miR-126 в сыворотке крови и белков S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина и бета-2-микроглобулина в слезе у пациентов с ретинальной венозной окклюзией позволяет использовать данные молекулы в качестве диагностических маркеров ОВС. А наличие динамических изменений показателей микроРНК дает возможность определять прогностические перспективы течения патологического процесса и степень его активности. Применение протеомного анализа и ПЦР-исследования позволит проводить раннюю диагностику у лиц с предполагаемым диагнозом ОВС и давать оценку

прогноза у пациентов с уже установленным диагнозом ретинальной венозной окклюзии.

Предметом исследования являлась проблема персонализации диагностики и профилактики окклюзии ретинальных вен.

Объектом исследования являлись 110 пациентов (110 глаз), средний возраст которых составил $65,95 \pm 12,41$ лет. Из них 80 пациентов составили основную группу, в которую вошли пациенты с окклюзией ретинальных вен, а 30 пациентов – группу контроля.

Степень достоверности и апробация результатов

Степень достоверности полученных результатов обеспечивается научной постановкой цели и задач исследования, достаточной выборкой (110 пациентов), применением современных высокоинформативных методов обследования пациентов (оптическая когерентная томография, микропериметрия, фоторегистрация глазного дна), а также статистической обработки результатов исследования.

Проведение диссертационного исследования «Окклюзии вен сетчатки: молекулярные основы патогенеза и особенности клинического течения» одобрено Комитетом по этике научных исследований ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (протокол № 13 от 26.11.2019).

Апробация диссертации состоялась на расширенном заседании кафедры офтальмологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России протокол № 9 от 29.08.2022. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на международных конференциях «Трансляционная медицина: возможное и реальное» в 2019 и 2020 годах, на заседании кафедры офтальмологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России и сотрудников Московского офтальмологического центра ДЗМ ГБУЗ им. С. П. Боткина Департамента здравоохранения г. Москвы.

Исследование проводилось в рамках государственного задания Рег. N AAA-A20-120031090034-5.

Внедрение результатов работы в практику. Результаты диссертационной работы внедрены в клиническую практику Московского городского офтальмологического центра ДЗМ ГБУЗ им. С. П. Боткина (акт внедрения от 29 июня 2022

года). Результаты научных исследований включены в соответствующие разделы основной профессиональной образовательной программы высшего образования – программа подготовки кадров высшей квалификации в ординатуре по специальности 31.08.59. Офтальмология, в учебные планы циклов повышения квалификации врачей-офтальмологов кафедры офтальмологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

Научные публикации по теме диссертации. По теме диссертационной работы опубликовано 5 печатных работ, из них 3 в научных рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, в международных базах данных и системах цитирования – SCOPUS.

Личное участие соискателя ученой степени в получении результатов, изложенных в диссертации. Личный вклад соискателя ученой степени в науку заключается в разработке научной идеи использования значений уровней микроРНК в сыворотке крови и белков S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина и бета-2-микроглобулина в слезной жидкости в качестве диагностических и прогностических маркеров тяжести течения при различных типах ретинальной венозной окклюзии. Полученные результаты, изложенные в диссертационной работе основаны на анализе научной отечественной и зарубежной литературы; обосновании актуальности темы исследования и степени разработанности проблемы; формулировании цели и задач исследования; определении методологии решения задач; анализе полученных данных; обобщении результатов; формировании заключения, выводов и положений, выносимых на защиту, подготовке практических рекомендаций; формировании материалов для публикации по теме диссертации. Автором лично производился сбор всех материалов, офтальмологические исследования, забор биоматериалов для молекулярных исследований.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертация «Окклюзии вен сетчатки: молекулярные основы патогенеза и особенности клинического течения» соответствует паспорту специальности 3.1.5. Офтальмология

(медицинские науки) и направлению исследования п. 1 «Разработка новых и усовершенствование известных методов обследования органа зрения и его придатков, методов диагностики различных заболеваний».

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 113 страницах печатного текста, состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций. Работа иллюстрирована 40 таблицами и 48 рисунками. Список литературы содержит 151 источник (33 отечественных, 118 зарубежных).

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Современные представления об эпидемиологии окклюзии ретинальных вен

Окклюзия ретинальных вен – это тяжелое сосудистое заболевание, для которого характерно нарушение оттока крови в венозных сосудах сетчатки в результате тромбоза [25].

XXI веком датируются первые упоминания об этом заболевании. Первое название данного заболевания звучало как «апоплексия сетчатки» [93], затем «геморрагический ретинит» [87], и только в 1976 году ученый-клиницист S. S. Naureh предложил схожее с современным название «геморрагическая ретинопатия» или «ретинальный венозный стаз» [70].

Распространенность окклюзий вен сетчатки значительно зависит от возраста пациентов и в среднем составляет 3,69–5,11 на 1000 человек. При этом для пациентов в возрасте до 69 лет значения распространенности составляют 2,1 на 1000 человек, а для пациентов старше 80 лет – уже 4,6 на 1000 человек [3].

Среди всех офтальмологических сосудистых заболеваний ОВС занимает второе место по распространенности после диабетической ангиоретинопатии [55, 134].

Возрастной диапазон пациентов варьируется от 14 до 92 лет (средний возраст составляет 66 ± 11 лет) [57, 69, 86]. Стоит отметить, что на сегодняшний день характерно «омоложение» окклюзии ретинальных вен. И мужчины страдают от данного заболевания в более раннем, чем женщины, возрасте [27].

При этом считается, что нет гендерной предрасположенности к ретинальной венозной окклюзии, однако, по данным Klein R. (2000), женщины болеют несколько чаще мужчин (около 65%). Окклюзия вен сетчатки зачастую носит односторонний характер и может возникнуть с одинаковой вероятностью как на левом, так и на правом глазу. Одновременное поражение сразу двух глаз встречается крайне редко – в 5% случаев [65].

Окклюзия основного ствола центральной вены сетчатки (ЦВС) встречается значительно реже (0,8 на 1000 человек), чем окклюзии ее отдельных ветвей (4,42 на 1000 человек) [53, 121].

По другим данным, приведенным S. Rogers, основной ствол центральной вены сетчатки поражается в 15% случаев, а отдельные ветви ЦВС – в 85%. Причем наиболее часто окклюзия ЦВС возникает в височных ветвях (93%), носовые (3%) и макулярные (4%) ветви поражаются значительно реже [27].

В то же время из-за скрытой или слабовыраженной клинической симптоматики при поражении небольших ветвей центральной ретинальной вены пациенты далеко не всегда обращают внимание на проблему и, соответственно, не получают медицинскую помощь. Этот факт мешает формированию более точной эпидемиологической картины и дает основание полагать, что нарушение кровообращения в отдельных ветвях ЦВС встречается еще чаще.

К основным типам клинического течения ОВС относятся ишемический и неишемический тип, которые зависят от степени закупорки в капиллярном русле, а также от ангиографической и электроретинографической картин.

Неишемическая окклюзия ЦВС встречается в несколько раз чаще (65–75%), чем ишемическая [80, 127].

При неишемической окклюзии возникает неполная облитерация венозного русла с сохранением кровотока, что характеризуется высокой вероятностью восстановления венозной проходимости и ретинальной перфузии, а также низкой степенью выраженности ишемического процесса. Переход из неишемического типа ОВС в ишемический в течение 6 месяцев происходит в среднем у 10% пациентов, а в течение полутора лет – у 12,5%.

Причем чем старше пациент, тем больше вероятность данной трансформации, и для пациентов старше 65 лет она достигает 18,5% [2].

Для ишемической окклюзии характерна полная облитерация просвета венозного сосуда, прекращение ретинальной перфузии и развитие выраженного ишемического процесса [24].

Более того, при ишемической ретинальной венозной окклюзии значительно (до 70–90%) возрастает вероятность возникновения постокклюзионной ретинопатии и степень выраженности ее симптомов [121].

1.2. Этиопатогенез и факторы риска окклюзии вен сетчатки

В основе патогенеза окклюзии ретинальных вен лежат несколько формирующих факторов, к которым относятся локальные механические изменения, изменения состава крови и показателей гемодинамики, а также биохимические и иммунологические нарушения.

Экспериментально были выявлены 3 патогенетические стадии развития окклюзий вен сетчатки [25]:

1. Первая стадия, происходящая во временном диапазоне от 1 до 6 часов после окклюзии, включает в себя повышение давления в проксимальной части вены, с последующей дисфункцией эндотелия и повышением проницаемости сосудистой стенки с развитием отека сетчатки.

2. Во временной период от 6 часов до 1 недели после окклюзии происходит разрушение эндотелия и перицитов, обнажение базальной мембраны сосудистой стенки, как следствие начинается адгезия тромбоцитов и формирование тромба, что приводит к полному стазу в микроваскулярном русле и возникновению геморрагий.

3. От 1 до 5 недель сохраняется окклюзия капилляров, появляется пролиферация соединительной ткани в пораженной вене и формируется её необратимая закупорка.

Повреждение вены происходит, как правило, в области решетчатой пластинки или в месте артериовенозных перекрестов. Стоит отметить, что значимые повреждения как вен, так и артерий происходят только при расположении артерии над веной в месте перекреста [105]. Подвергаясь компрессии, нарушается целостность эндотелия венозной стенки, и он теряет свою функциональную активность, что приводит к нарушению гемодинамики, тромбообразованию и развитию частичной или полной окклюзии ретинальной вены. Из-за ухудшения оттока венозной крови гематоретинальный барьер нарушается – возникает отек сетчатки и формируются множественные интратретинальные геморрагии. Капиллярный кровоток сетчатки резко снижается, возникает гипоксия, в ответ на которую усиливается экспрессия ангиогенных факторов и провоспалительных цитокинов. В результате происходит формирование новообразованных сосудов на сетчатке (постокклюзионная

ретинопатия), радужной оболочке (рубоз радужки) и в углу передней камеры (неоваскулярная глаукома).

Еще одной возможной причиной развития окклюзии ретинальных вен является нарушение работы системы гемостаза. Гемостазом называют физиологический процесс, состоящий из каскада реакций, обеспечивающих скорейшую остановку кровотечения на фоне повреждения сосудистой стенки, восстановление целостности сосуда и уничтожение кровяных сгустков, а также поддержание крови в жидком состоянии [106]. В функционировании гемостаза участвуют три непосредственно связанных друг с другом основные системы: свертывающая, противосвертывающая и сосудистая. Правильная работа гемостаза возможна только при нормальном функционировании всех систем [96].

К основным причинам развития окклюзии ретинальных вен на фоне дисфункции системы гемостаза относят нарушение баланса между коагуляционными и антикоагуляционными системами, вазодилатирующими и вазоспазмирующими факторами, изменение вязкости крови. Под тромбогенными факторами подразумевают стимуляцию или повреждение стенки сосудов, активацию тромбоцитов, активизацию факторов свертывания крови, нарушение фибринолизиса, стаз крови. К процессам, препятствующим формированию тромбоза, относятся: полноценная антикоагулянтная активность эндотелия, количество и функция естественных ингибиторов сериновых протеаз в пределах нормы, клиренс активных протеаз гепатоцитами и тканевыми макрофагами, целостная фибринолитическая система [14]. Существует большое количество гипотез, направленных на объяснение конкретных механизмов развития подобного дисбаланса, однако данные, полученные в результате большого количества исследований, проведенных в данном направлении, весьма противоречивы и неоднозначны [33].

Как уже упоминалось ранее, эндотелий сосудистой стенки является важным участником при развитии окклюзионных изменений ретинальных вен, поэтому его дисфункция является значимым звеном патогенеза данного заболевания. Эндотелиальная дисфункция определяется увеличением или снижением адекватного об-

разования в эндотелии различных биологически активных веществ [10]. Определить выраженность эндотелиальной дисфункции можно с помощью оценки содержания в крови этих веществ или путем исследования уровня в крови факторов, повреждающих эндотелий, содержание которых тесно связано с эндотелиальной дисфункцией. Основными факторами риска повреждения эндотелия являются: гиперхолестеринемия, гипергомоцистеинемия, а также повышенный по той или иной причине уровень провоспалительных цитокинов.

Еще одной причиной развития окклюзии ретинальных вен является так называемая тромбофилия или наследственная предрасположенность к тромбообразованию. В этом случае формирование тромба происходит спонтанно и не связано с повреждением эндотелия. В анамнезе подобных пациентов, как правило, фигурируют эпизоды тромбозов различной локализации, а лечение проводится офтальмологом совместно с гематологом [3].

Тромбофилия относится к патологиям системы гемостаза, но в контексте причины развития ретинальной венозной окклюзии обычно рассматривается отдельно, так как данное заболевание имеет врожденный характер и генерализованное проявление.

Нарушение кровотока в ретинальных венах возникает не только в связи с системными сосудистыми патологическими изменениями и нарушениями реологических свойств крови, но и на фоне сопутствующих офтальмологических заболеваний. Установлено, что риск развития ОВС выше у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой [27, 39, 47, 83, 145]. Точный механизм данной связи до конца не определен, однако, наибольшую распространенность получила теория, которая связывает развитие окклюзии центральной ретинальной вены с ее механическим сдавлением в области решетчатой пластинки на фоне экскавации диска зрительного нерва, вызванной глаукомным процессом [88].

К основным факторам риска развития венозной окклюзии сосудов сетчатки относятся: сахарный диабет и дислипидемия, артериальная гипертензия, курение, отягощенная наследственность по кардиологической патологии, а также первичная открытоугольная глаукома [111, 132]. От 42% [25] до 89% [54, 55, 103] пациентов с

установленным диагнозом окклюзия вен сетчатки в анамнезе страдают гипертонической болезнью [25], причем при кризовом течении гипертонической болезни ретинальная венозная окклюзия встречается в 7,3 раза чаще, чем при гипертонической болезни, которая протекает без кризов [23]. Считается, что это связано со склерозом артериол, который развивается на фоне повышения давления и приводит к возникновению уже венозной окклюзии [131]. Распространенность сахарного диабета у лиц, перенесших ОВС, высокая и, по данным ряда источников, составляет около 43% [59, 118]. Несмотря на то, что согласно некоторым источникам гипергликемия встречается у 12–34% пациентов с ретинальной венозной окклюзией [25], непосредственной связи между уровнем глюкозы в крови и развитием окклюзии вен сетчатки не обнаружено [78, 138]. Около 20% пациентов с установленным диагнозом ретинальной венозной окклюзии страдают разными формами дислипидемии [25]. Данная корреляция обусловлена, по-видимому, тем, что большая часть фракций липидов неизбежно возрастают при таких состояниях, как артериальная гипертензия и атеросклероз [81, 102].

Группой российских исследователей была проведена работа, в рамках которой выявлено, что наиболее тяжелое течение окклюзии вен сетчатки, а также наиболее частое возникновение осложнений наблюдается у пациентов со следующими факторами риска: мужской пол, курение более 20 лет, гипертоническая болезнь в отсутствии компенсации от 3-й стадии и выше, наличие в анамнезе острого нарушения мозгового кровообращения, инфаркта миокарда и стеноза сонных артерий более 30% [26].

Проанализировав данные за временной промежуток 12 лет, Sugati S. (2000) определил, что в течение этого срока 26% пациентов, которые перенесли острое нарушение венозного кровообращения сетчатки, сталкиваются с инфарктом миокарда, а 5,3% сталкиваются с заболеваниями, связанными с нарушением кровообращения в сосудах головного мозга. Кроме того, доказано, что вероятность возникновения кардиоваскулярных осложнений после окклюзии вен сетчатки возрастает до 40–60% [119, 130].

1.3. Осложнения окклюзии ретинальных вен

Самыми частыми и грозными осложнениями ретинальной венозной окклюзии являются вторичная неоваскулярная глаукома и ишемический макулярный отек. В течение 3 лет от момента острого нарушения кровообращения в венах сетчатки у 34% пациентов на фоне сниженной ретинальной гемоциркуляции развивается ишемический отек и появляются новые интратретинальные геморрагии [4, 18, 72, 79]. Первое описание вторичной неоваскулярной глаукомы или «геморрагической глаукомы» было создано А. Pagenstecher в 1871 году [107]. Повышение внутриглазного давления связано с закрытием угла передней камеры фиброзной и неоваскулярной тканью. Развитие данного осложнения происходит в 8% от всех случаев ретинальной венозной окклюзии и в 45–82% при ишемическом типе ОВС [101, 142]. Повторная окклюзия ретинальных вен на том же или парном глазу возникает у 15% пациентов [28, 128]. При этом вероятность рецидива на парном глазу значительно выше [65].

Следует отметить, что даже в отсутствии рецидива в течение 7 лет после острой ретинальной венозной окклюзии около 20% пациентов сталкиваются с различными сосудистыми изменениями сетчатки на парном глазу [7, 23]. По данным ряда источников, инвалидизация пациентов в связи с осложнениями, связанными с ОВС, составляет около 1% от всех заболеваний органа зрения [23, 110, 131].

Исход ретинальной венозной окклюзии определяется главным образом оперативной диагностикой и лечением, начатым в максимально ранние сроки, а также поиском факторов риска, которые приводят к развитию данного заболевания. Несмотря на значимые успехи, достигнутые в данных вопросах в последние десятилетия, количество пациентов с ретинальной венозной окклюзией продолжает увеличиваться так же, как и количество пациентов с системными сосудистыми заболеваниями. Из этого следует вывод о необходимости дальнейшего изучения особенностей эпидемиологии, этиологии, патогенеза и клинического течения ОВС для выработки новых современных подходов в диагностике и профилактике окклюзионных поражений ретинальных сосудов разной локализации и калибра.

Любая сосудистая катастрофа состоит из каскада патологических процессов, в основе которых лежат изменения, в первую очередь, на молекулярном уровне, и окклюзия ретинальных вен не является исключением. Своевременная диагностика подобных изменений позволяет использовать молекулярные агенты в качестве биологических маркеров заболеваний. Биомаркеры дают возможность выявлять потенциальных пациентов еще до появления жалоб, что улучшает прогноз и снижает риск потери зрения у пациентов с окклюзией вен сетчатки. В качестве потенциальных биомаркеров изменений ретинальных сосудов в данном исследовании будут рассматриваться белки теплового шока HSP70, белки семейства S100A, мезотелин, бета-2-микроглобулина, а также микроРНК-21, микроРНК-155 и микроРНК-126.

1.4. МикроРНК

МикроРНК (miR) были открыты в 1993 году и представляют собой одноцепочечные некодирующие РНК длиной 16–27 (чаще всего 22) нуклеотидов [64, 77]. Транскрипция генов, которые кодируют предшественники микроРНК, зависит от профилей метилирования геномной ДНК и модификаций гистонов, которые, в свою очередь, изменяются при различных заболеваниях [12].

На сегодняшний день научные коллективы из разных стран активно изучают возможность использования микроРНК в качестве диагностических маркеров широкого спектра патологий.

Многочисленные данные свидетельствуют о существенном изменении экспрессии микроРНК при разных системных и локальных сосудистых патологиях, а также говорят об огромном диагностическом потенциале микроРНК, в частности, так называемых «циркулирующих» микроРНК, в качестве биомаркеров [109]. Циркулирующие микроРНК выступают в качестве динамических показателей, которые изменяются как при физиологических состояниях, так и при различного рода патологических процессах, в том числе нейродегенеративных и сердечно-сосудистых заболеваниях. К примеру, miR-145, miR-133b, miR-1, miR-208a и miR-133a, miR-499, miR-208b вовлечены в диагностику ишемической болезни сердца [100].

Определено, что в крови пациентов при атеросклерозе значительно изменен уровень ряда микроРНК (повышено содержание miR-21, miR-211c, miR-130a и miR-21, и снижен уровень miR92a, miR-126 и miR-222) [11]. Более того, кроме важного диагностического значения, для вышеупомянутых микроРНК или их ингибиторов установлена возможность применения в качестве терапевтических агентов при атеросклерозе [8].

Установлено, что к наиболее тяжелым осложнениям атеросклеротического поражения сосудов относятся ишемический инсульт и инфаркт миокарда. Многочисленные наблюдения, проводимые как на животных моделях, так и на пациентах, указывают на связь уровней некоторых циркулирующих и тканевых микроРНК с развитием ишемического инсульта, а также рядом патологических изменений в постинсультном периоде. Например, в острой фазе ишемического инсульта возрастает уровень miR-21 miR-126 и снижается уровень miR-221, а повышение уровней miR-210 и miR-145 является предиктором более благополучного исхода патологического процесса [5]. Ишемический инфаркт миокарда также сопровождается рядом специфических изменений микроРНК. В частности, выявлено, что при инфаркте миокарда резко снижается уровень miR-375 [43].

Гипертоническая болезнь является наиболее распространенным заболеванием сердечно-сосудистой системы и выступает в качестве триггерного фактора для множества сосудистых нарушений, в том числе и со стороны органов зрения. Группой отечественных ученых была проведена работа, в рамках которой обследовались пациенты с наличием или отсутствием гипертонической болезни для изучения характеристик определенных микроРНК: miR-221, miR-155, miR-222, miR-126. В результате было выявлено увеличение уровней всех рассматриваемых микроРНК у пациентов с гипертонической болезнью по сравнению с пациентами без данного заболевания. При этом у лиц с повышенным уровнем артериального давления преобладает значение miR-221, а у здоровых обследуемых – miR-126 [32].

На сегодняшний день существуют данные об изменении профилей микроРНК не только при системных сосудистых заболеваниях, но и при офтальмологических заболеваниях, в основе которых лежит сосудистая патология. Наиболее показательные

результаты были получены при исследовании циркулирующих микроРНК при диабетической ангиоретинопатии и возрастной макулярной дегенерации.

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) — это хроническое прогрессирующее заболевание, которое является основной причиной необратимой потери центрального зрения у пожилых людей. Снижение зрения у пациентов происходит в результате хориоидальной неоваскуляризации (ХНВ) с последующим повышением проницаемости сосудистой стенки, экссудацией и, как следствие, необратимым повреждением фотосенсорного слоя сетчатки. Являясь сложным заболеванием, возрастная макулярная дегенерация зависит как от генетических (в том числе комплементарных) факторов, так и от факторов окружающей среды [61]. Некоторые микроРНК, связанные с рядом комплементарных факторов, изменяют свою экспрессию в крови и тканях глаза, полученных у пациентов с возрастной макулярной дегенерацией. Например, в крупном исследовании, где с помощью полимеразной цепной реакции проводилось обнаружение порядка 384 микроРНК в плазме крови пациентов с экссудативной формой макулярной дегенерации, уровни 16 микроРНК были существенно изменены, а 10 микроРНК определялись исключительно у пациентов с влажной формой ВМД [63].

Исследователи из Италии оценили профили экспрессии различных микроРНК у пациентов с ВМД и без данного заболевания, а также на животной модели (использовали сетчатку грызунов с искусственно индуцированными изменениями). Анализ полученных результатов показал, что у пациентов с возрастной макулярной дегенерацией значимо изменены уровни miR-155, miR-27a, miR-23a, miR-34a, miR-146a, miR-9 в плазме крови. Наибольшие отклонения были получены для miR-146a, miR-127a и miR-155, что делает возможным применять их в качестве потенциальных биомаркеров и фармакологических мишеней для лечения возрастной макулярной дегенерации [122].

Диабетическая ретинопатия (ДР) – еще одно серьезное офтальмологическое заболевание, с лежащими в основе сосудистыми нарушениями, для которого рассматривается возможность использования микроРНК в качестве биомаркеров. ДР

относится к одним из наиболее часто встречающихся микрососудистых осложнений сахарного диабета (СД), который в настоящее время признан глобальной эпидемией. Основой патогенеза ДР является повреждение микрососудистого русла в результате длительного воздействия гипергликемии. Прогрессирующая ретинальная ишемия в итоге стимулирует экспрессию индуцируемых гипоксией факторов роста, таких как VEGF, которые вызывают ретинальную неоваскуляризацию [45]. При этом происходит разрушение гематоретинального барьера и, как следствие, просачивание сосудов и развитие отека сетчатки [112]. Анализ циркулирующих микроРНК из образцов сыворотки или плазмы пациентов с наличием или отсутствием ДР показал изменение уровней экспрессии многих микроРНК в популяциях пациентов, различающихся по возрасту, типу СД, сроку от начала заболевания и т. д. [114]. По данным ряда исследований, установлено, что у пациентов с диабетической ретинопатией были определены изменения в профилях экспрессии miR-155 [144], miR-150 [98] и miR-126 [42, 113, 116]. Наибольшей клинической значимостью обладают miR-155 и miR-126 [90]. Исследователи из Китая изучали уровень miR-126 в сыворотке крови пациентов с ДР и у здоровых добровольцев с помощью ПЦР в реальном времени. Уровень экспрессии данной микроРНК у добровольцев без диабетических изменений сетчатки значимо отличался от аналогичного у лиц с ДР. Анализ сыворотки крови пациентов, которые страдают как пролиферативной (ПДР), так и непролиферативной диабетической ретинопатией (НПДР), продемонстрировал, что уровень miR-126 достоверно различался у пациентов с разной степенью тяжести ретинальных изменений. Уровень miR-126 при этом снижался по мере появления пролиферативных патологических изменений сетчатки. В рамках исследования была разработана панель диагностических пороговых значений уровня miR-126, использование которых дает возможность достоверно прогнозировать риск развития как НПДР, так и ПДР, а также определять пограничные состояния с риском перехода в ПДР. Авторы предполагают, что miR-126 может быть использована в качестве биомаркера эндотелиального повреждения сосудов сетчатки и ранней диагностики пролиферативной диабетической ангиоретинопатии [113].

На основании вышеупомянутой информации были выделены микроРНК-кандидаты, которые, на наш взгляд, могут обладать наибольшей ценностью и информативностью в качестве потенциальных биомаркеров окклюзии ретинальных вен (Таблица 1).

Таблица 1 – Экспрессия микроРНК-кандидатов при различных патологических состояниях

	miR-126	miR-155	miR-21
Сосудистая патология			
Атеросклероз	↓ [11]	↓↑ [11]	↑ [11]
Ишемический инсульт	↓ [123]	↓↑ [123]	↑ [123]
Гипертоническая болезнь	↑ [32]	↓↑ [32]	↑ [1]
Ишемическая болезнь сердца	↑ [32, 149]	↓↑ [32, 66]	↑ [91]
Офтальмологическая патология			
Диабетическая ретинопатия	↓ [90, 113, 116]	↑ [95]	↑ [49]
Возрастная макулярная дегенерация	↓ [60, 149, 137]	↑ [122]	↑ [147]

Среди про-ангиогенных микроРНК, участвующих в регуляции экспрессии таких факторов роста, как VEGF и FGF, одну из ключевых позиций занимает miR-126 [52, 149]. Профили экспрессии данной микроРНК были исследованы на нескольких животных моделях, имитирующих патологические особенности сосудистых заболеваний органа зрения. К подобным моделям относились кислород-индуцированная модель ретинопатии, включающая неоваскуляризацию, характерную для диабетической ретинопатии, а также лазер-индуцированная ХНВ-модель, имитирующая экссудативную форму возрастной макулярной дегенерации. Уровень miR-126 понижался в хориоидеи мышей с лазер-индуцированной ХНВ [137], так же, как в сетчатке и хориоидеи грызунов при кислород-индуцированной модели ретинопатии [60]. Более того, у грызунов с низким уровнем miR-126 происходили поражения периферических отделов хориоидеи [151], а при кислород-индуцированной модели ретинопатии искусственное стимулирование экспрессии miR-126

снижало активность неоваскуляризации сетчатки и тормозило повреждение гематоретинального барьера [41].

Mir-155 является провоспалительной микроРНК, которая специфически экспрессируется в атеросклеротических бляшках и провоспалительных макрофагах (M1-фенотип) [11]. При экссудативной форме ВМД, а также при нескольких экспериментальных моделях (кислород-индуцированной ретинопатии [143], светоиндуцированной дегенерации сетчатки [108] и ДР, индуцированной стрептозоцином [84], в сетчатке происходят значительные изменения экспрессии miR-155. Выявлено, что снижение выработки данной микроРНК вызывает уменьшение площади сечения сосудов и снижение активности неоваскуляризации в кислород-индуцированной модели ретинопатии на грызунах [143]. Более того, установлено, что miR-155 регулирует комплементарный фактор H при ВМД [95], поддерживая его роль в ангиогенезе и воспалении при различных патологиях органа зрения. Таким образом, miR-155 можно рассматривать в качестве важного биомаркера, который отражает провоспалительные каскады, сопровождающие развитие сосудистых заболеваний. Повышенное внимание вызывают исследования, направленные на оценку miR-155 как терапевтической мишени для лечения данных патологий.

Еще одной микроРНК, представляющей особый интерес для изучения у пациентов с сосудистой патологией, является miR-21. Установлено, что эта микроРНК тесно связана с опухолеобразованием и неоваскуляризацией [94]. Кроме того, доказано, что экспрессия miR-21 может значительно изменяться при различных кардиологических патологиях [147]. Как показывают исследования, miR-21 играет важную роль в патогенезе ВМД. Она участвует в регуляции роста ретинальных сосудов, о чем говорит ее высокая экспрессия в эндотелиальных клетках сетчатки. Усиление экспрессии miR-21 было выявлено в экспериментальной модели лазер-индуцированной ХНВ у грызунов. К тому же искусственная стимуляция экспрессии miR-21 угнетает пролиферацию и миграцию культивируемых эндотелиальных клеток путем целенаправленного ингибирования определенных белков, влияющих на динамику актиновых филаментов [123]. Эти данные указывают на диагностический и болезнь-модулирующий потенциалы miR-21.

Исследования, в которых проводился анализ изменений профилей экспрессии различных микроРНК при сосудистых патологиях глаза, весьма немногочисленны. Однако существующие данные позволяют рассматривать эти молекулы в качестве перспективных диагностических маркеров ряда офтальмологических заболеваний, в том числе и такой серьезной сосудистой патологии органа зрения, как ретиальная венозная окклюзия.

Комплексная оценка экспрессии определенных микроРНК позволит выполнять малоинвазивный скрининг, оперативное лечение и своевременную профилактику заболевания. Разработка панелей микроРНК и поиск их пороговых значений, выход за границы которых может вызывать развитие осложнений у пациентов как до, так и после успешно проведенного лечения, является важным компонентом для качественной оценки прогностических перспектив.

1.5. Белки теплового шока

Нарушение кровообращения в сосудах сетчатки несомненно является стрессовой для организма ситуацией. В ответ на любой стресс в организме вырабатываются белки теплового шока или так называемые стресс-белки (HSP). Более того, ряд современных исследований свидетельствует о том, что HSP могут выступать в качестве аутоантигенов, являющихся компонентами иммунной системы, вовлечённой в патогенез сосудистых патологий.

Белки теплового шока относятся к группе функционально сходных белков, экспрессия которых усиливается в ответ на различные стрессовые воздействия на клетку, при которых снижается выработка основного пула белков, участвующих в нормальных метаболических процессах. Следует отметить, что увеличение температуры является далеко не единственной причиной, приводящей к усилению экспрессии данных белков. Уровень стресс-белков возрастает также при гипоксии, воздействии биологических, вирусных, химических агентов, ультрафиолетового излучения и др. Располагаться HSP могут как внутриклеточно, так и внеклеточно, локализуясь непосредственно на клеточной мембране. К основным функциям белков теплового шока относят участие в формировании третичной и четвертичной

структуры белка, обеспечение его правильной сборки, а также они функционируют как молекулярные шапероны, препятствуя денатурации. Кроме того, стресс-белки участвуют в транспорте других белков через внутриклеточные мембраны. Белки теплового шока разделены на семейства в зависимости от молекулярной массы: 110, 90, 70, 60, 40 кДа, а также низкомолекулярные семейства [75].

Наличие положительной корреляции между уровнем HSP60 и развитием атеросклероза сонных артерий было выявлено еще в начале XXI века, а чуть позднее было доказано, что HSP60 может быть использован в качестве раннего биологического маркера атеросклероза. К тому же, известно, что повышение уровня растворимого цитоплазматического HSP60 связано с изменением уровня липопротеинов низкой плотности [125]. Среди всех гипотез развития атеросклероза достаточно широкую распространенность в настоящее время получила гипотеза аутоиммунного атерогенеза. Согласно которой в ответ на стрессовое воздействие эндотелиальные клетки артерий синтезируют HSP60, а высокий уровень гомологии между белками человеческого и микробного HSP60, который зачастую превышает 50% при полной идентичности отдельных доменов, может вызывать аутоиммунное поражение эндотелиальных клеток и приводить к развитию атеросклероза [141]. Это послужило основанием для проведения ряда исследований как на животных моделях, так и на человеке, подтверждающих, что существуют как про-, так и антиатерогенные врожденные и адаптивные иммунные ответы, которые влияют на развитие атеросклероза. В связи с чем группой исследователей было предложено использование аутоантигенов HSP60 в качестве компонента для вакцинации с целью развития иммуномодулирующей атеропротекторной стратегии [140]. Если высокий уровень HSP60 в крови положительно коррелирует с тяжестью течения атеросклероза, то повышение уровня, циркулирующего HSP70, наоборот, сопряжено с низким риском развития ишемической болезни сердца и меньшей степенью утолщения сосудистой интимы [73, 85, 120]. Более того, установлено, что при значимом атеросклеротическом поражении сосудов уровень циркулирующих HSP70 существенно ниже. Снижение уровня циркулирующих HSP70 связано с нарушением баланса между секрецией данных белковых молекул клетками здоровых артерий и

разрушением под воздействием атеросклеротических протеаз. Иммунные свойства, которыми обладает HSP70, также как и HSP60, позволяют рассматривать уровень антител к данному белку теплового шока как отдельный диагностический маркер прогрессирования атеросклероза [62].

Выявлено, что повышение уровня антител к HSP60 связано не только с наличием ишемической болезни сердца как таковой, но и с тяжестью течения заболевания. Чем больше сосудов участвует в патологическом процессе, тем выше титр циркулирующих антител [36]. В результате многочисленных исследований была установлена связь между хламидийной инфекцией и атеросклерозом коронарных сосудов. *Chlamydia pneumoniae*, которая часто располагается на поверхности атеросклеротических бляшек артерий разной локализацией, в том числе и артерий миокарда, содержит HSP60. Антитела, которые вырабатываются в организме человека к данным бактериальным белкам теплового шока, взаимодействуют с собственными HSP60, в результате чего формируются иммунные комплексы, оказывающие повреждающее действие на эндотелиальные клетки [9, 71]. Как уже упоминалось ранее, высокий уровень циркулирующих HSP70 свидетельствует о низкой вероятности развития ишемической болезни сердца и возникновения ее осложнений, что говорит о сложной и неоднозначной роли данных белков в развитии патологического процесса в коронарных сосудах [120]. Существует ряд подтверждающих это работ, в которых оценивались уровни циркулирующих HSP70 и антигенов к ним при остром коронарном синдроме и стенокардии напряжения. По данным выполненных исследований, обнаружено снижение уровня циркулирующих HSP70 в течение недели после острого инфаркта миокарда (ИМ) с одновременным увеличением антител к данным белкам теплового шока в тот же временной интервал. При сравнении уровней циркулирующих HSP70 при остром коронарном синдроме и при стенокардии напряжения более высокие уровни данного стресс-белка были выше у пациентов с инфарктом миокарда. Это объясняется тем, что при всех формах острого коронарного синдрома наблюдается разрыв атеросклеротических бляшек с последующим выходом внутриклеточных белков теплового шока в кровяное русло [19, 92, 97].

Помимо крупных системных сосудистых катастроф колебания уровней ряда стресс-белков, а также титра антител к ним возникают и при локальных сосудистых нарушениях. К примеру, HSP70, практически не определяющийся в здоровых тканях мозга, в большом количестве появляется в мозговых структурах при развитии как ишемического, так и геморрагического инсульта. HSP70 принимает участие в деградации поврежденных белков, вазоспазме, а также развитии апоптоза нервных клеток [34, 124]. При этом уровень данного белка можно использовать для дифференциальной диагностики геморрагического и ишемического инсульта, в связи с тем, что HSP70 при подобных состояниях определяется в разных порядках [34, 46]. С помощью экспериментальной модели с использованием грызунов установлено, что экспрессия HSP70 индуцируется только при длительной ишемии мозговых структур и достигает своего пика на вторые сутки. Непродолжительные фокальные эпизоды не вызывают значимое увеличение HSP70 [56]. Так же определено, что при продолжительной ишемии миокарда, HSP70 покидает кардиомиоциты и принимает участие в иммунных реакциях, выступая как активатор провоспалительных цитокинов, что увеличивает вероятность развития острого инфаркта миокарда [20]. К тому же, установлено, что HSP70 увеличивает продукцию и активность гуанилилциклазы, ускоряющей образование цГМФ, которая в свою очередь влияет на секрецию и агрегацию тромбоцитов. Это дает основание полагать, что увеличение уровня HSP70 может повышать вероятность развития тромбоэмболических осложнений и ДВС-синдрома [9].

На основании вышеизложенной информации можно сделать вывод о том, что белки теплового шока часто выступают как индикатор стрессового воздействия на различные клеточные структуры организма, особенно тонко реагируя на повреждения сосудистого звена. Глаз, будучи органом со сложным сосудистым устройством, безусловно, не является исключением.

Как уже упоминалось ранее, в норме в головном мозге практически отсутствует экспрессия HSP70. Исключением является сетчатка, в нейронах которой в отсутствии патологии определяются незначительные показатели данного стресс-белка, выработка которого происходит в основном в фотосенсорном слое. Следует

отметить, что невысокий уровень HSP70 также был выявлен во внешней пограничной мембране сетчатки, а также в эпителии роговицы и лимба [99, 67]. Группой азербайджанских ученых было проведено исследование, в рамках которого выполнялась оценка уровня HSP70 при искусственно индуцированной пигментной дистрофии сетчатки у кроликов, выполненной путем внутривенного введения моноидуксусной кислоты. По результатам данного исследования было обнаружено увеличение HSP70 в клетках сетчатки в ответ на ее повреждение токсином, что говорит об увеличении экспрессии провоспалительных факторов и последующем запуске репаративных процессов [6]. Информация об изменении уровня HSP70 при ретинальном повреждении весьма неоднозначна, в связи с наличием ряда исследований, где в ответ на стрессовое воздействие на сетчатку уровень данного белка теплового шока не изменялся или имел статистически незначимые колебания. Так, в 2014 году было проведено крупное исследование, в котором при искусственной дегенерации ганглионарных клеток сетчатки, вызванной четырьмя различными способами, не было обнаружено значимых изменений со стороны экспрессии HSP70 ни в одной из экспериментальных моделей [51].

Глаукома является многофакторным нейродегенеративным заболеванием, для которого характерны повреждение ганглиозных клеток сетчатки и атрофия зрительного нерва. Точный механизм патогенеза глаукомы остается до конца не известным, однако, одним из доказанных элементов патологического процесса являются иммунологические изменения. Повреждающее или нейропротекторное действие стресс-белков в каждом конкретном случае определяется концентрацией как самих белков теплового шока, так и антител к ним, а также продолжительностью усиленной экспрессии [133, 115]. Выявлено, что для пациентов с нормотензивной глаукомой характерно появление атипичных аутоантител к HSP60. Предполагается, что данные антитела принимают участие в гибели нейронных клеток. Кроме того, по результатам исследования, в котором выполнялась искусственная иммунизация крыс HSP60, была выявлена существенная потеря ганглионарных клеток сетчатки, а также их аксонов у привитых грызунов в течение 2 месяцев после иммунизации. Авторы пришли к заключению, что ретинальных изменения, которые

возникают у привитых крыс, подобны изменениям сетчатки пациентов с начальными проявлениями глаукомы до повышения внутриглазного давления [76]. Еще одним подтверждением участия белков теплового шока, в частности HSP70, в течении глаукомного процесса является работа турецких ученых, которые обнаружили данный стресс-белок в водянистой влаге передней камеры глаз пациентов с псевдоэкзофолиативным синдромом в концентрации в 1,5 раза выше, чем у пациентов без данной патологии [68]. Более того, группой российских исследователей установлено, что у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой в слезной жидкости было обнаружено появление как HSP70, так и аутоантител к ним. Авторы считают, что появление данных стресс-белков в жидкостях глаза осуществляется по увеосклеральному пути и говорит о повреждении ганглионарных клеток сетчатки, а сформировавшиеся иммунные комплексы активируют дополнительные звенья патогенеза первичной открытоугольной глаукомы [29].

Роль белков теплового шока при нарушениях кровотока в сосудах сетчатки на сегодняшний день остается до конца неизученной, однако вышеупомянутая информация свидетельствует о высокой вероятности вовлеченности стресс-белков в локальные изменения ретинальных сосудов и открывает большой потенциал для работы в данном направлении.

1.6. Белки семейства S100A

Как уже упоминалось ранее, при окклюзии ретинальных вен наблюдается постепенное увеличение белков острой фазы и некоторых провоспалительных цитокинов. К ним относят интерлейкин 6 и VEGF-фактор (фактор роста эндотелия сосудов). Однако подобное увеличение весьма изменчиво, поскольку определяется индивидуальной вариабельностью цитокинов и рядом эпигенетических факторов [136, 146]. Эти особенности делают весьма затруднительным более глубокое понимание патогенеза окклюзии ретинальных вен на молекулярном уровне и формируют потребность поиска дополнительными факторами, определяющими патологиче-

ский процесс при ОВС. И по результатам нескольких научных исследований, проведенных в последние годы, к таким факторам можно отнести белки семейства S100A.

Белки S100A — группа кальций-связывающих белков с низким молекулярным весом (около 10–12 килодальтонов) [126]. Эти белки являются димерами, т. е. состоят из двух субъединиц, которые по структуре и составу схожи с аминокислотами [13]. Белки семейства S100A связаны с врождённым иммунитетом, обладают антибактериальным действием, увеличиваются при хронической ишемии и нейродегенеративных процессах в тканях мозга. К ключевым звеньям белков семейства S100A относятся белки S100A8 (кальгранулин А, или MRP8) и S100A9 (кальгранулин В, или MRP14). Эти белки были обнаружены на ранних этапах развития таких клеток как гранулоциты, моноциты и макрофаги. Кроме того, сливаясь, данные белки образуют гетеродимер S100A8/S100A9 – кальпротектин. Кальпротектин является кальций- и цинк-связывающим белком, участвует в таких процессах, как апоптоз, дифференцировка клеток, иммунные реакции и др.; кроме того, кальпротектин считается белком острой фазы воспаления и также обладает антибактериальной активностью [21]. S100A8, S100A9 и S100A12 экспрессируются преимущественно в фагоцитах и тесно связаны с провоспалительными функциями. Белок S100A12 также относится к кальций-связывающим белкам, секретируется активированными гранулоцитами и составляет примерно 5% от общей цитозольной части белков в нейтрофильных гранулоцитах [40, 135, 139].

Концентрация в сыворотке крови белков S100A коррелирует с активностью воспалительных заболеваний; высокие уровни были выявлены при таких заболеваниях как ревматоидный артрит, системная красная волчанка, хронический бронхит и муковисцидоз [82, 139]. Концентрации S100A7, S100A8, S100A9 и S100A12 увеличиваются при активации псориаза [44, 58].

Уровень белков S100A повышается не только при системных, но и при местных воспалительных или аутоиммунных заболеваниях. Установлено, что белки семейства S100A могут рассматриваться как биомаркеры с широкой прогностиче-

ской эффективность для мониторинга различных офтальмологических заболеваний [129]. Так, концентрация белков S100A8, S100A9 и S100A12 увеличивается в сыворотке крови у пациентов с ювенильным идиопатическим увеитом, а уровень кальпротектина повышается у взрослых пациентов с эндогенным задним увеитом [37, 104]. Ученые из Китая выполнили большое исследование, направленное на поиск терапевтических агентов при поствоспалительной неоваскуляризации роговицы. По результатам своей работы исследователи предположили, что белки S100A8 и S100A9 могут быть использованы как потенциальные терапевтические мишени при неоваскуляризации роговицы, так как кальгранулины обладают как воспалительной, так и ангиогенной активностью, и их повышение определяется в ткани роговицы еще на начальных этапах воспалительной реакции задолго до развития новообразованных сосудов на роговичной оболочке глаза [89].

Кроме того, повышение концентрации белков семейства S100A наблюдается и при других заболеваниях роговицы: в роговичном эпителии при прогрессировании кератоконуса определяется увеличение концентрации белка S100A4, а в тканях птеригиума широко экспрессируются белки S100A6, S100A8 и S100A9 [74, 117].

Протеомное исследование слезы пациентов с возрастной макулярной дегенерацией показало значительное увеличение концентрации белков факторов комплемента (C3 и C9), кластерина, S100A9 и S100A8. Причем большинство белков были значимо увеличены только при влажной форме возрастной макулярной дегенерации [148]. Еще одно крупное протеомное исследование слезы было проведено международной командой ученых из Канады и США, в котором проводился анализ слезной жидкости у пациентов с синдромом сухого глаза. В результате было выявлено значительное повышение уровня белков S100A8 и S100A9 у пациентов с синдромом сухого глаза вне зависимости от возраста.

В исследовании группы швейцарских ученых белок S100A12 рассматривается как фактор, способствующий развитию воспаления при ишемии, вызванной окклюзией ретинальных вен. В работе, проведённой на животной модели ОВС, было обнаружено пятикратное увеличение концентрации белка S100A12 в гангли-

озных клетках сетчатки и их дендритных отростках [48]. А относительное концентрации увеличение белков семейства S100A в подострый период ретиальной венозной окклюзии говорит о возможном продолжающемся воспалении и прогрессировании ишемического процесса [135].

Приведенные данные свидетельствуют о том, что белки, относящиеся к семейству S100A, в том числе кальпротектин, участвуют в сосудистых нарушениях в тканях головного мозга, что позволяет предположить их заинтересованность в локальных сосудистых катастрофах со стороны органа зрения. Иммуногенные и антибактериальные свойства данных белков, а также их вовлеченность в острую фазу воспаления открывают широкий потенциал для возможности использования белков S100A в качестве диагностических маркеров и терапевтических агентов.

Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая характеристика исследуемой группы пациентов

Исследование проводилось на кафедре офтальмологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, в Московском Городском Офтальмологическом Центре ГБУЗ ГKB им С. П. Боткина ДЗМ, НИИ Общей патологии и патофизиологии, НИИ Молекулярной и персонализированной медицины и Институте биомедицинской химии.

Обследовано 110 пациентов (110 глаз). Средний возраст – $62,20 \pm 11,89$ лет. Из них 80 пациентов (42 мужчины, 38 женщин) составили основную группу, в которую вошли пациенты с окклюзией ретинальных вен, а 30 пациентов – группу контроля. Согласно задачам диссертационной работы всем 80 пациентам основной группы проводились только диагностические манипуляции, лечение пациентов в задачи диссертационной работы не входило и проводилось лечащими врачами отделения.

В группу контроля вошли 10 мужчин и 20 женщин без патологических изменений на глазном дне, характерных для окклюзии ретинальных вен. Средний возраст – $75,93 \pm 7,18$ лет.

Критерием включения для основной группы был установленный диагноз окклюзии центральной вены сетчатки или ее ветвей.

Для группы контроля: отсутствие патологических изменений сетчатки, характерных для окклюзии ретинальных вен.

Критериями невключения являлись любые другие заболевания глаз, влияющие на результат и анализ результатов, соматические заболевания в стадии суб- или декомпенсации, а также наличие онкологических или аутоиммунных заболеваний.

Для анализа возраст-ассоциированных особенностей молекулярных механизмов патогенеза ОВС пациенты основной группы были распределены по следующим подгруппам в соответствии с классификацией ВОЗ (2016 г.):

1. 45–59 лет (средний возраст). Всего 31 пациент (38,75%).

2. 60–74 года (пожилой возраст). Всего 36 пациентов (45,00%).

3. 75–90 лет (старческий возраст). Всего 13 пациентов (16,25%).

Для анализа связи молекулярных особенностей и тяжести течения ОВС пациенты основной группы были распределены на следующие подгруппы в соответствии с классификацией окклюзии ретинальных вен с учетом типа окклюзии:

1. Ишемическая окклюзия ретинальных вен. Всего 50 человек (62,50%) из них 24 женщины и 26 мужчин. Средний возраст пациентов составил $62,18 \pm 11,85$ года.

2. Неишемическая окклюзия ретинальных вен. Всего 30 человек (37,50%) из них 14 женщин и 16 мужчин. Средний возраст пациентов составил $62,23 \pm 12,17$ года.

А также с учетом анатомической локализации окклюзии:

1. Окклюзия центральной вены сетчатки. Всего 63 человека (78,80%), из них 29 женщин и 34 мужчины. Средний возраст пациентов составил $62,62 \pm 11,93$ года.

2. Окклюзия ветвей центральной вены сетчатки. Всего 17 человек (21,20%), из них 9 женщин и 8 мужчин. Средний возраст пациентов составил $60,65 \pm 12,00$ года.

2.2. Методы обследования пациентов

2.2.1. Стандартные офтальмологические методы обследования

Всем пациентам выполняли стандартные методы офтальмологического обследования: сбор данных анамнеза, рефрактометрию на приборе «Canon» (Full Auto Refkeratometer RK-F1), определение остроты зрения при помощи проектора опто-типов «Tomey (TCP-1000)» и стандартного набора стекол (в исследовании анализировалась максимально корригированная острота зрения), пневмотонометрию при помощи тонометра «Huvitz (HNT-7000)». Биомикроскопию и офтальмоскопию проводили с помощью щелевой лампы «Topcon (SL-1E)». Исследование стекловидного тела и глазного дна выполняли в условиях медикаментозного мидриаза с помощью офтальмологических линз 78 и 90 Дптр.

2.2.2. Сбор данных анамнеза и клинико-диагностических заключений

Сбор анамнестических и клинико-диагностических данных проводился с учетом анализа сопутствующих заболеваний и факторов риска развития ОВС. Принималось во внимание наличие у пациентов следующих сопутствующих патологий и факторов: пожилой возраст, атеросклероз, гиперлипидемия (высокий уровень холестерина в крови), гипертоническая болезнь, сахарный диабет, ишемическая болезнь сердца, инфаркты и инсульты в анамнезе, отклонения в коагулограмме (изменения уровня фибриногена, МНО, АЧТВ, протромбина и изменение тромбинового времени), прием антикоагулянтной терапии.

2.2.3. Специальные офтальмологические методы обследования

Фоторегистрация глазного дна (ФРГД) проводилась с использованием фоторегистратора цифровой фундус-камеры (Visucam 500) фирмы «Zeiss», Германия (part number: 000000-1781-493_GA_GB_230710, 2010 г.); данная фундус-камера работает по принципу офтальмоскопа и отражает глазное дно под углом поля зрения либо 30°, либо 45°. Аппарат функционирует в бесконтактном режиме.

Оптическую когерентную томографию (ОКТ) выполняли на RTVue-100 фирмы «Optovue», США (model: RT100-2, part number: 300-42929, 2009 г.) и Retina Scan-3000 Advance фирмы «NIDEK» (model: rs-3000 advance, part number: 651063).

ОКТ 10 пациентам основной группы проводилась на RTVue-100 фирмы «Optovue». При выполнении исследования использовались следующие протоколы сканирования:

- 1) Скан «ЕММ6» – 12 радиальных сканов, дает карту центральной части макулярной зоны с использованием паттерна радиального скана;
- 2) 3D Macular – сканирование центральной зоны сетчатки с преобразованием данных в трехмерную картину;
- 3) Скан ЕММ5 – карта макулы с площадью нормативной базы 5×5 мм.

ОКТ 70 пациентам основной группы проводилась на Retina Scan-3000 Advance, фирмы «NIDEK». При выполнении исследования использовались следующие протоколы сканирования:

- 1) Скан «Macula Multi Cross» – 5 вертикальных и 5 горизонтальных сканов, формирующие карту центральной зоны сетчатки (6,0 мм);
- 2) Скан «Macula Map» – карта макулы с площадью нормативной базы 9×9 мм;
- 3) Скан «Macula Map Angioscan» – карта сосудистой сети макулярной области (с учетом плотности поверхностного сосудистого сплетения) с площадью нормативной базы 3×3 мм;
- 4) Скан «Disc Map» – карта диска зрительного нерва с площадью нормативной базы 9×9 мм.

Исследуемые показатели были разделены на группы бинарных и количественных. Критерии из группы бинарных оценивались наличием или отсутствием таковых. В них вошли: наличие отслойки нейроэпителия, интравитреальных геморрагий и кистозных полостей.

Группу количественных показателей составляли: толщина сетчатки в fovea; толщина СНВС superior, inferior, nasalis, temporalis; площадь аваскулярной зоны, плотность внутреннего кольца поверхностного сосудистого сплетения, плотность наружного кольца поверхностного сосудистого сплетения, общая площадь поверхностного сосудистого сплетения.

Микропериметрия была проведена 80 пациентам из основной группы на фундус-микропериметре MAIA (CenterVue, Италия, model: TES2 23LTAO0413 W68 2505 15Z, part number: 00017609, 2010 г.). С целью оценки светочувствительности макулярной зоны сетчатки использовался протокол Full Threshold (Expert Exam) 4-2. При данном протоколе микропериметр последовательно производит 37 стимулов, расположенных по всем меридианам в 30° от точки фиксации, которая определяется автоматически. Яркость воспроизводимых стимулов варьируется от 0 до 36 Дб. Размер стимула Goldmann III, длительность подачи стимула 200 мс. После окончания исследования аппарат самостоятельно определяет средний показатель светочувствительности макулярной зоны сетчатки в децибелах (Дб). Микропериметр также самостоятельно определяет стабильность точки фиксации взора, выдавая отчет в виде трех возможных вариантов – нестабильная фиксация, воз-

можно нестабильная, стабильная. Основным показателем, рассматриваемым в работе, являлась средняя светочувствительность центральной зоны сетчатки, исчисляемая в Дб.

2.3. Методики забора биоматериала для молекулярных исследований

Биоматериалом для молекулярного исследования с целью выделения микроРНК служила сыворотка крови пациентов, для проведения протеомного исследования использовалась слезная жидкость.

2.3.1. Методика забора образцов сыворотки крови пациентов

Для забора крови пациентов использовались вакуумные пробирки.

Забор крови осуществлялся в условиях процедурного кабинета и состоял из следующих этапов:

- 1) подготовка пробирок, иглы, держателя, спиртовой салфетки и пластыря;
- 2) наложение пациенту жгута на рубашку или пеленку на 7–10 см выше места венепункции (локтевого сгиба). Пациент сжимает кулак;
- 3) определение места венепункции (наиболее часто используются средняя локтевая вена);
- 4) дезинфекция места венепункции, введение вакуумной системы «держатель – игла» в вену под углом 15° относительно поверхности кожи;
- 5) пробирка вставляется до упора в держатель, далее происходит набор крови в пробирку до тех пор, пока в ней не компенсируется вакуум;
- 6) жгут снимается сразу же после начала поступления крови в вакуумную пробирку (кулак пациента должен быть разжат);
- 7) после остановки поступления крови пробирка извлекается из держателя, система «держатель – игла» извлекается из вены. Для обеспечения безопасности игла снимается с держателя и переносится в специальный контейнер для утилизации;
- 8) на место пункции прикладывается стерильная спиртовая салфетка;
- 9) пробирка маркируется и отстаивается в держателе вертикально в течение 40 минут (до разделения сыворотки и форменных элементов крови);

10) с помощью шприца объемом 2 мл из стерильной вакуумной пробирки извлекается сыворотка и переливается в стерильный заранее подготовленный эпиндорф, который потом помещается в специальный контейнер в морозильную камеру с температурой минус 20 °С.

2.3.2. Методика забора образцов слезы пациентов

Забор слезной жидкости у пациентов осуществлялся за щелевой лампой (Торсон [SL-1E]) со следующей последовательностью:

- 1) пациент устанавливает голову за аппарат и принимает удобное положение;
- 2) для минимизирования раздражения глазной поверхности и получения нестимулированной слезной жидкости забор производится из нижнего конъюнктивального свода с предварительной его тракцией в нижнем направлении;
- 3) с помощью лабораторного дозатора со стерильной пипеткой на конце выполняется набор слезы в объеме 80–100 мкл;
- 4) полученный материал переливается в стерильный заранее подготовленный эпиндорф, который потом помещается в специальный контейнер в морозильную камеру с температурой минус 80 °С.

2.4. Молекулярные исследования

2.4.1. Протеомное исследование

Подготовка образцов слезной жидкости для масс-спектрометрии проводилась в несколько этапов. Образец слезы в объеме 30 мкл смешивался со 120 мкл метанола, полученную смесь центрифугировали для осаждения белков при ускорении 17500×г и температуре 15 °С в течение 10 минут. Жидкая часть удаляется, а полученный осадок разводится в 15 мкл растворе для денатурации, который состоит из 1%-й дезоксихоловой кислоты соли натрия, мочевины, 6%-го ацетонитрила, хлорида натрия, буферизованного триэтиламмония бикарбоната и обогащенного свежеприготовленного трис-(2-карбокситил) фосфина. Данный раствор настаивался в течение 20 минут при температуре 45 °С при постоянном перемешивании.

вании. Алкилирование обеспечивалось с помощью 2%-го раствора 4-винилпиридина и 30%-го изопропанола. После алкилирования образец был десятикратно разбавлен бикарбонатом триэтиламмония (рН 8,2). Ферментация раствора проходила с трипсином в течение 3 часов при 37 °С. После завершения ферментации реакцию гасили с помощью 50%-го раствора муравьиной кислоты. Полученные образцы центрифугировались при ускорении 12500×г и температуре 10 °С в течение 10 минут для осаждения нерастворимой дезоксихолевой кислоты. Для очистки жидкой фракции от остатков дезоксихолевой кислоты используют этилкетат в объеме 100 мл и последующим центрифугированием на тех же параметрах. Полученную очищенную жидкостную часть высушивают под вакуумом при температуре 30 °С в течение 40 минут, образовавшийся осадок восстанавливается в 20 мкл 0,5%-го раствора муравьиной кислоты.

Протеомное исследование выполнялось на масс-спектрометре Xevo G2-XS, оснащенном источником электростатической ионизации Z-образной формы. Расход расщепляющего газа был в пределах 720 л/ч при температуре 410 °С, а расход газового конуса составлял 50 л/ч при температуре 150 °С. Исследование ионов-предшественника проводилось в режиме анализатора чувствительности в диапазоне 300–1250 м/ц в течение 235 мс полного рабочего цикла. Фрагментные ионы формировались в режиме CID с использованием энергии столкновения (при участии аргона) в пределах 14–42 эВ. Сбор данных поддерживался активной калибровкой в онлайн режиме шлюзовой массе = 556,27, применяемой каждые 30 секунд пороговым отклонением 3 мДа.

Образцы разделяли с помощью системы UPLC H-класса Acquity и загружали в объеме 3 мкл (всего 3 мкг белковой фракции на колонку) на колонку Acquity™ UPLC BEH C18 (2,1×50 мм, размер частиц 1,7 мкм; нагретую до 50 °С с предварительно установленным в линию фильтром 0,2 мкм при скорости потока 0,3 мл/мин). Пептиды разделяли в градиенте подвижной фазы А (вода) и подвижной фазы В (ацетонитрил), в обеих содержалось 0,1%-й муравьиной кислоты и 0,015%-й трифторуксусной кислоты по следующей схеме градиента: 0–2,5 мин 3% В, затем повышение В до 17% на 31,5 мин, затем повышение В до 37% на 45 мин и быстрое

повышение В до 97% на 47,5 мин. Очистка В поддерживалась в изократическом режиме до 51 мин при скорости потока 0,45 мл/мин, затем производилось плавное снижение до исходного состояния (3% В) в 53,5 мин и стабилизация в течении следующих 6 мин с расходом 0,3 мл/мин.

Анализ полученных протеомных данных выполнялся с помощью поисковой системы PLGS (Protein Lynx Global Server, версия 3.0.3, Waters, Великобритания) по базе данных аминокислотных последовательностей белков человека UniProt KB (обновление от мая 2021 года). Для оценки частоты встречаемости ложноположительных результатов в базу данных автоматически были включены специальные «последовательности – приманки». Поиск проводился при допуске массы предшественника 20 миллионных долей (окно допуска ± 10 миллионный долей) и допуске массы фрагмента 0,008 дальтон (окно допуска ± 4 миллидальтон). В качестве фиксированной модификации поиск включал S-пиридилэтилирование, в качестве переменных модификаций использовалось окисление метионина и дезамидирование. Минимальная длина пептида составляла восемь аминокислот с допуском не более одного внутреннего пропущенного расщепления. Количественная нагрузка была оценена с использованием универсального протеомного стандарта UPS-2 (Merck), который содержит 48 белков в известном диапазоне концентраций, охватывающем пять порядков величин. Количественное измерение проводилось с применением креатинкиназы-М (номер допуска P06732 UniProt) и агониста гибели ВНЗ-взаимодействующего домена (номер допуска P55957 UniProt), включенного в набор UPS-2 при 500 и 50 фемтомолях соответственно. В результате протеомного анализа было обнаружено 710 и 682 белков в контрольной и основной группе соответственно, общая часть протеома составляла 505 идентичных белков или более 70% от размера каждого протеома.

2.4.2. Выделение микроРНК с помощью ПЦР-исследования

Выделение микроРНК выполнялось с помощью реагента Qiazol и набора miRNeasy Mini Kit (Qiagen, Хильден, Германия) в соответствии с протоколом про-

изводителей с небольшими изменениями. Реагент Qiazol добавляли к 500 мкл сыворотки крови в объемном соотношении 2 : 1. Центрифугирование для разделения фаз производилось с участием хлороформа, образовавшаяся водная фаза переносилась в новую пробирку и смешивалась с 1,5 объема 100%-го этанола. Раствор, включающий микроРНК, загружали в колонку miRNeasy и проводили дальнейшую отмывку в соответствии с заводскими инструкциями. Объем элюции на выходе составлял 30 мкл. Чистота и концентрация выделенной микроРНК оценивалась на спектрофотометре NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Нью-Йорк, США). Данный процесс выделения повторяли для каждого исследуемого образца до получения достаточного количества микроРНК для проведения следующих этапов.

Обратную транскрипцию проводили с использованием набора MiScript II RT Kit (Qiagen) в соответствии с предлагаемым протоколом. Для получения кДНК (комплементарная РНК с заменой нуклеотида урацил [U], на тимин [T]) использовалось 300 нг суммарной РНК, выделенной из каждого исследуемого образца, которая переносилась в реакционную смесь и инкубировалась при температуре 37 °С в течение 60 минут, с последующим пятиминутным увеличением температуры до 95 °С с целью инактивации транскриптазы.

ПЦР в реальном времени проводилось в 96-луночных планшетах, в которых объем каждой лунки – 200 мкл. Объем реакционной смеси для каждой лунки составлял 12 мкл, из них 2 мкл – кДНК, 5 мкл фабричной смеси, содержащей буфер, полимеразу и краситель, 1 мкл универсального праймера, идентичного для всех микроРНК, 1 мкл праймера для конкретной микроРНК (Таблица 2) и 3 мкл воды. Далее планшет накрывался специальной пленкой и осуществлялся запуск программы. ПЦР в реальном времени выполнялось на приборе CFX96 Real-Time PCR Detection System по рекомендованной производителем программе (15 минут при 95 °С для активации, далее 40 трехступенчатых циклов (94 °С – 15 секунд, 55 °С – 30 секунд, 70 °С – 30 секунд.)).

Исследование выполнялась трехкратно для каждой анализируемой микроРНК, а также экзогенного контроля cel-miR-39-3p. Экспрессия микроРНК была

нормализована относительно экзогенного контроля и рассчитывалась с использованием метода 2- $\Delta\Delta C_t$.

Таблица 2 – Последовательности праймеров для ПЦР в реальном времени

<i>микроРНК</i>	<i>Последовательность</i>
miR-21	5'- TAGCTTATCAGACTGATGTTGAAAA-3'
miR-155	5'-ТТААТГСТААТСГТГАТАГГГГТАААА-3'
miR-126	5'- САТТАТТАСТТТТГГТАСГСГАААА -3'

2.5. Статистические методы обработки результатов исследования

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью пакетов прикладных программ Statistica 10, SAS JMP 11 и Microsoft Office Excel 2016.

Для описания числовых переменных использовалось среднее значение и стандартное отклонение, имеющее вид « $M \pm S$ ». На всех графиках для количественных переменных среднее арифметическое представлено точкой, медиана обозначена горизонтальным отрезком, межквартильный размах имеет вид прямоугольника, минимальные и максимальные уровни обозначены вертикальными линиями.

Для сравнения двух групп по количественным шкалам использовался непараметрический метод Манна – Уитни. Статистическая значимость отличий групп для категориальных и бинарных шкал выяснялась при помощи метода Хи-квадрат Пирсона для независимых групп, и при помощи критерия МакНеймера для зависимых групп. Корреляционный анализ проводился при помощи непараметрической ранговой корреляции по Спирмену.

Непараметрический критерий Уилкоксона служил основой для анализа динамики показателей при сравнении двух периодов.

При моделировании дихотомических целевых шкал использовались деревья классификации – инструмент, дающий возможность прогнозировать вероятности исследуемых событий в зависимости от соответствующих уровней независимых факторов, а также разделять респондентов на классы риска. С помощью этого инструмента можно постепенно анализировать эффект влияния всех шкал, а также появляется возможность выполнять одномерное ветвление для изучения вклада

каждой переменной и работать с факторами разных видов. ROC-анализ использовался с целью оценки качества построенных деревьев.

Уровень статистической значимости был зафиксирован на значении 0,05.

Анализ полноты данных выполнялся на основе количества непропущенных данных и их доли в полном объеме в формате «N (%)». Для обозначения центрального положения и абсолютного разброса данных использовались среднее значение и стандартное отклонение в формате « $M \pm S$ », а для оценки относительного разброса применялся коэффициент вариации V , описывающий однородность показателя и дающий возможность сопоставлять однородность неодинаковых переменных, вне зависимости от их масштаба и единиц измерения. Принято считать, что, если уровень вариации составляет меньше 10%, то степень разброса данных незначительная, от 10% до 20% – средняя, при значении больше 20% и меньше или равно 33% – значительная; если значение коэффициента вариации менее 33%, то совокупность считается однородной, если более 33%, то – неоднородной.

Для изучения структуры данных по каждому показателю использовалась медиана и квартили в виде « $Me [LQ; UQ]$ », а также минимум и максимум с целью оценки диапазона разброса значений показателя в виде «(Min; Max)».

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Взаимосвязь особенностей клинического течения окклюзии ретинальных вен и уровней miR-126, miR-155, miR-21 в крови и белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9 в слезной жидкости

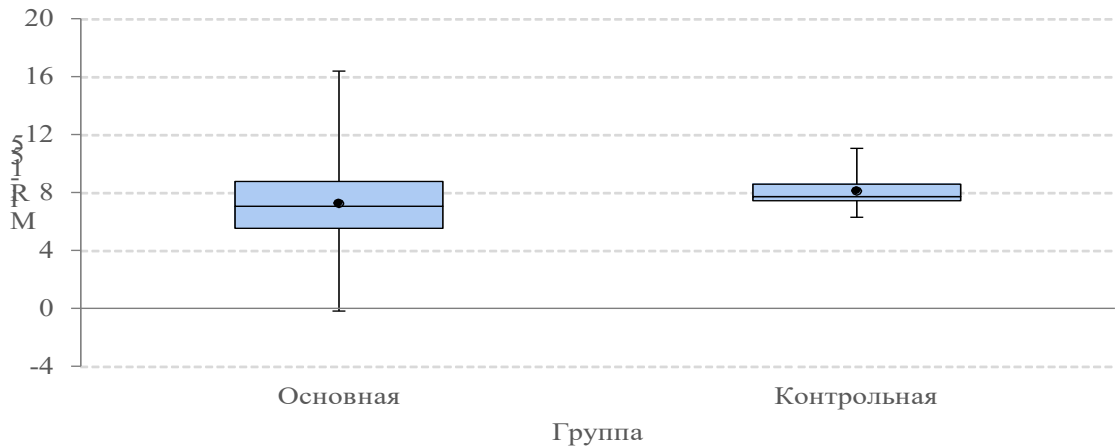
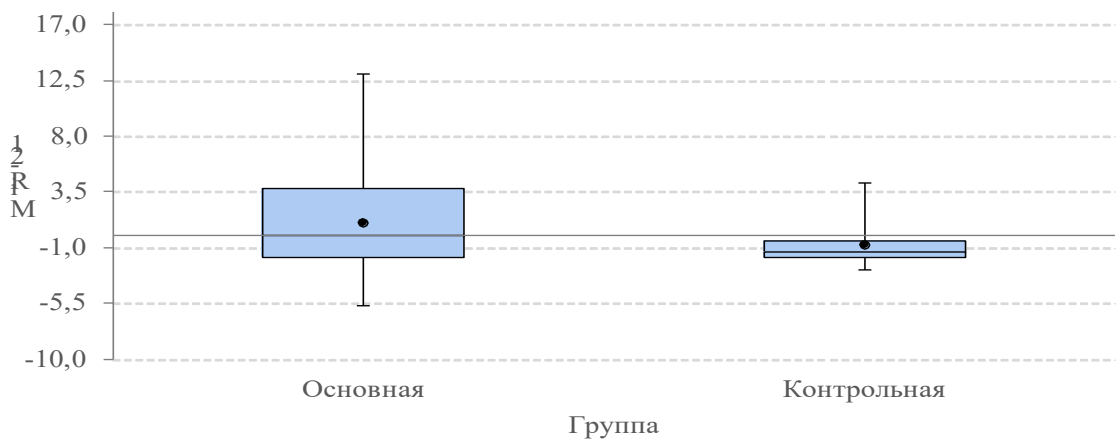
На основании целей и задач работы в рамках данного раздела было выделено 3 основных этапа исследования. Сначала определялось наличие корреляции между уровнями miR-126, miR-155, miR-21, белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9 и наличием ОВС с определением основных факторов риска развития данного заболевания. Вторым и третьим этапом изучалось наличие взаимосвязи между локализацией (центральная вена сетчатки или ее ветви) и типом (ишемический, неишемический) и между уровнями miR-126, miR-155, miR-21, белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9 с оценкой особенностей клинического течения патологического процесса.

3.1.1. Сравнение основной и контрольной групп с целью выявления взаимосвязи между уровнем miR-126, miR-155, miR-21 в крови, белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9 в слезной жидкости и ОВС, а также определения основных факторов риска окклюзии ретинальных вен

При сравнении исследуемых групп по количественным показателям miR на момент поступления и через 6 месяцев после окклюзии наиболее значимые различия обнаружены для показателя miR-21 на момент поступления (в основной группе больше в среднем на 1,9; $P = 0,0282$) (Таблица 3, Рисунки 2, 5, 8); показателя miR-155 на момент поступления (в среднем в контрольной группе больше на 0,8; $P = 0,0163$) (Таблица 3, Рисунки 1, 4, 7). Для показателя miR-126 более значимые различия были получены для значений, полученных через 6 месяцев после ОВС (в основной группе больше в среднем на 1,65; $P = 0,00061$) (Таблица 3, Рисунки 3, 6). Анализ данных, представленных в Таблице 3, позволяет сделать вывод о том, что 2 из 3 показателей микроРНК, полученные на момент поступления и через 6 месяцев после окклюзии, статистически значимо различаются между двумя сравниваемыми группами.

Таблица 3 – Сравнение основной и контрольной групп по уровню микроРНК

Показатель	Группа		Уровень <i>P</i>
	Основная (N=80)	Контрольная (N=30)	
<i>miR</i> в плазме крови на момент поступления			
miR-126	2,42±3,97	1,65±1,41	0,4644
miR-155	7,22±3,06	8,06±1,12	0,0163
miR-21	1,04±4,14	-0,83±2,01	0,0282
<i>miR</i> в плазме крови через 6 месяцев			
miR-126	0,30±2,49	1,65±1,41	0,00061
miR-155	5,82±2,22	8,06±1,12	< 0,0001
miR-21	-1,54±2,47	-0,83±2,01	0,13

**Рисунок 1** – Диаграммы размаха по показателю miR-155 на момент поступления в основной и контрольной группах**Рисунок 2** – Диаграммы размаха по показателю miR-21 на момент поступления в основной и контрольной группах

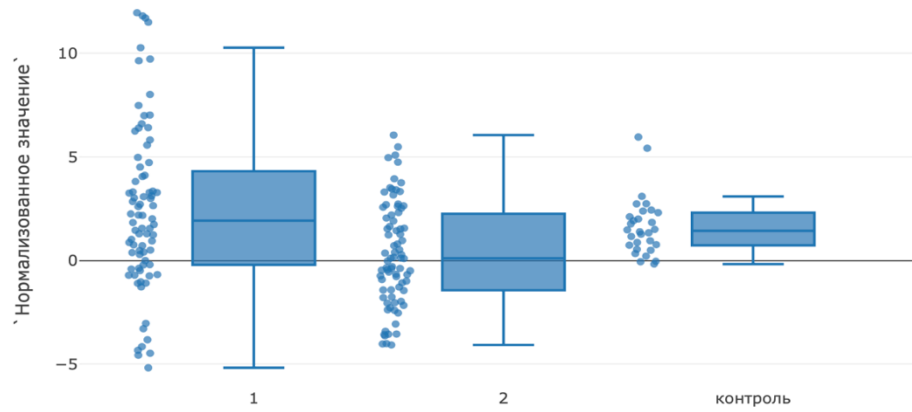


Рисунок 3 – Диаграммы размаха по показателю miR-126 на момент поступления (1) и через 6 месяцев (2) в основной и контрольной группах

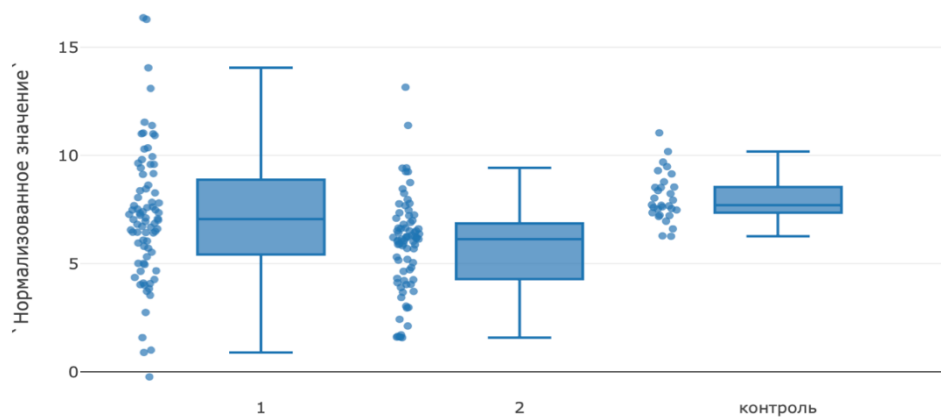


Рисунок 4 – Диаграммы размаха по показателю miR-155 на момент поступления (1) и через 6 месяцев (2) в основной и контрольной группах

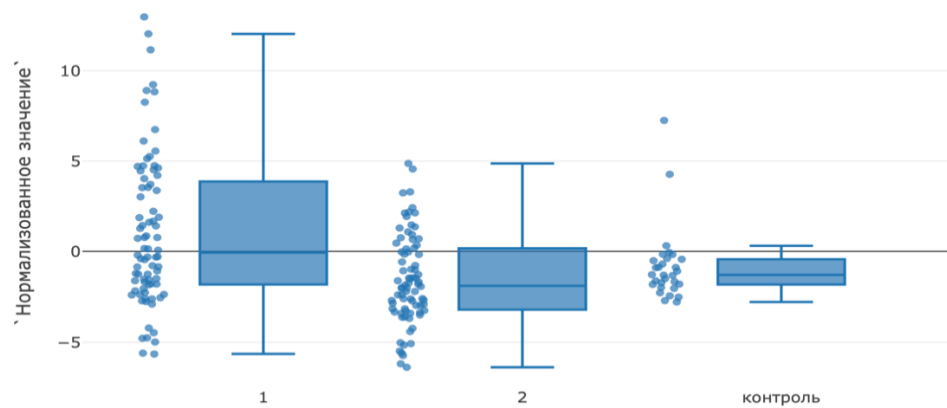


Рисунок 5 – Диаграммы размаха по показателю miR-21 на момент поступления (1) и через 6 месяцев (2) в основной и контрольной группах

Для применения t-критерия Стьюдента (t-теста) необходимо, чтобы исходные данные имели правильное распределение. С этой целью были составлены Q-Q графики (графики квантилей), на которых можно увидеть, что распределение исследуемых признаков находится в рамках нормативных значений.

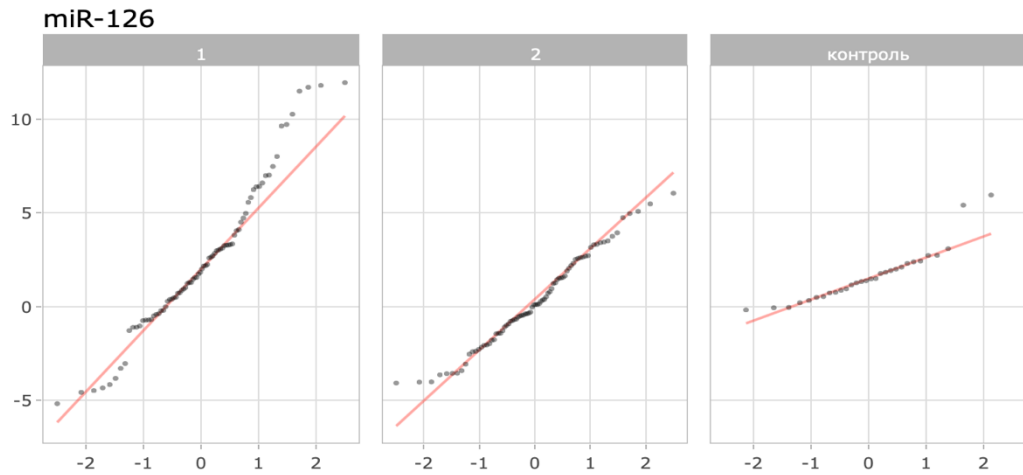


Рисунок 6 – Графики квантилей по показателю miR-126 на момент поступления (1) и через 6 месяцев (2) в основной и контрольной группах

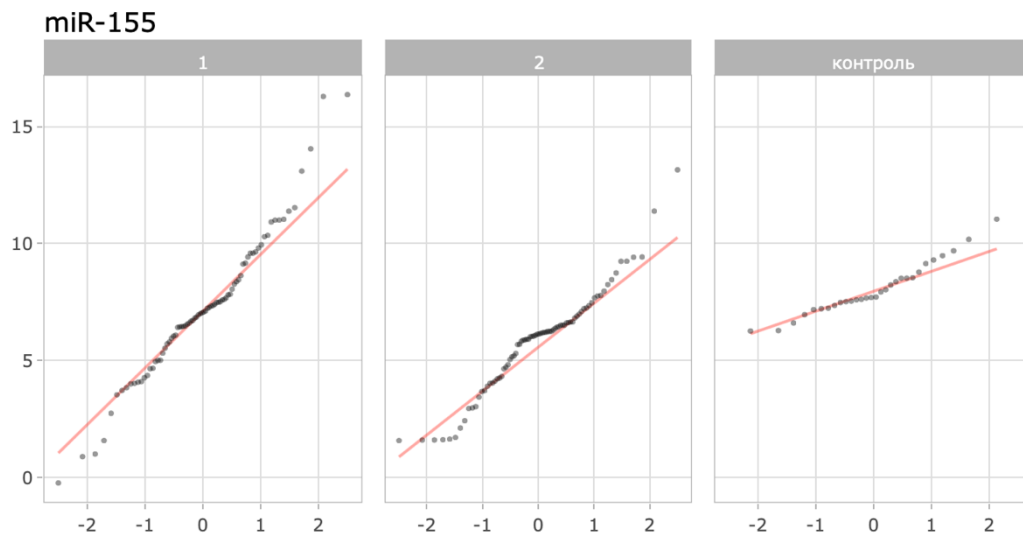


Рисунок 7 – Графики квантилей по показателю miR-155 на момент поступления (1) и через 6 месяцев (2) в основной и контрольной группах

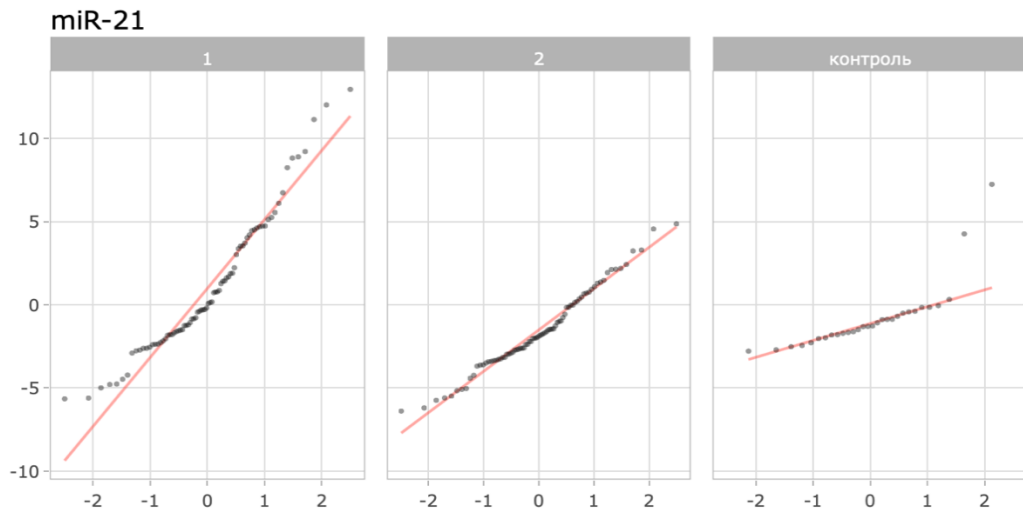


Рисунок 8 – Графики квантилей по показателю miR-21 на момент поступления (1) и через 6 месяцев (2) в основной и контрольной группах

При сравнении исследуемых групп по количественным показателям HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9 на момент поступления наиболее значимые различия обнаружены для показателя S100-A9 (в основной группе больше в среднем на 13,0; $P < 0,0001$) (Таблица 4, Рисунок 11); показателя S100-A8 (в основной группе в среднем на 6,0; $P < 0,0001$) (Таблица 4, Рисунок 10); показателя S100-A6 в основной группе в среднем больше на 11,4; $P < 0,0001$) (Таблица 4, Рисунок 9).

Кроме того, при обработке данных протеомного исследования, в котором производилось выделение суммарно более 700 разновидностей белков, были выявлены два дополнительных белка со статистически значимыми различиями между двумя сравниваемыми группами, определение которых не выходило в задачи исследования.

К данным белкам относится небольшой поверхностный белок мезотелин («Mesothelin»), который был больше у пациентов основной группы в среднем на 0,83, и компонент главного комплекса гистосовместимости β_2 -микроглобулин («Beta-2-microglobulin») (у пациентов основной группы ниже в среднем на 8,42) (Таблица 4; Рисунки 12, 13).

Таблица 4 – Сравнение основной и контрольной групп по уровню белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина и бета-2-микроглобулина на момент поступления

Показатель	Группа		Уровень P
	Основная (N = 80)	Контрольная (N = 30)	
Белки в слезе			
HSP70	1,38±1,16	0,85±0,80	0,0811
S100-A6	17,35±17,58	5,98±9,42	< 0,0001
S100-A8	6,88±6,91	0,88±0,60	< 0,0001
S100-A9	15,33±14,17	2,37±1,42	< 0,0001
Mesothelin	1,54±1,14	0,71±0,50	< 0,0001
Beta-2-microglobulin	3,21±2,34	11,63±7,81	< 0,0001

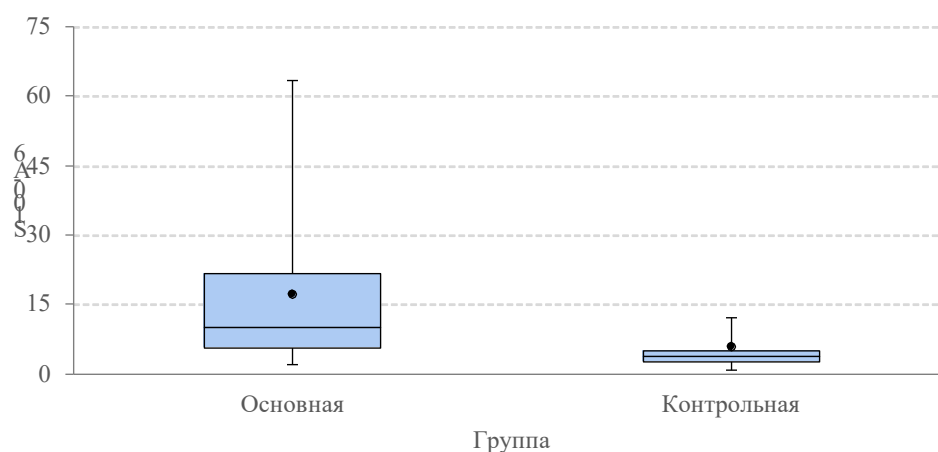


Рисунок 9 – Диаграммы размаха по показателю S100-A6 на момент поступления в основной и контрольной группах

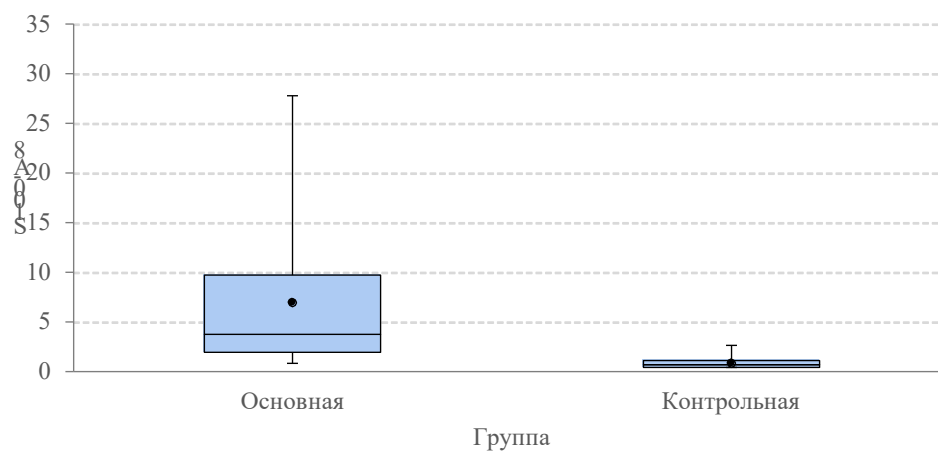


Рисунок 10 – Диаграммы размаха по показателю S100-A8 на момент поступления в основной и контрольной группах

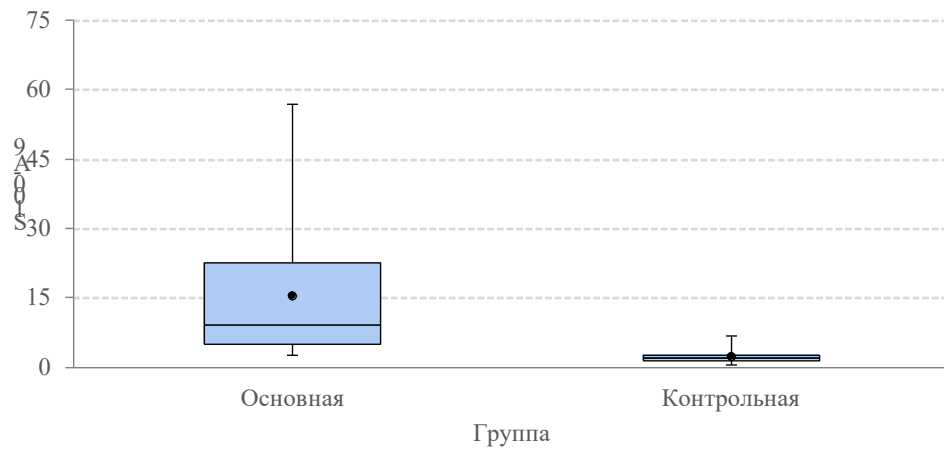


Рисунок 11 – Диаграммы размаха по показателю S100-A9 на момент поступления в основной и контрольной группах

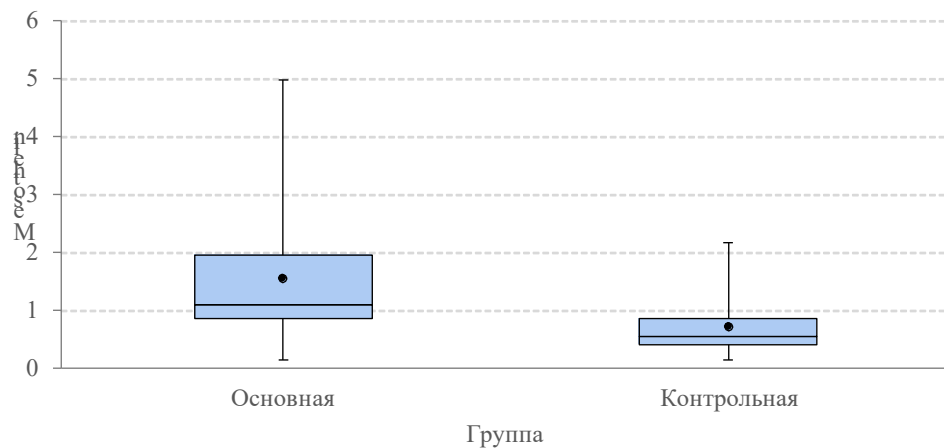


Рисунок 12 – Диаграммы размаха по показателю «Mesothelin» на момент поступления в основной и контрольной группах

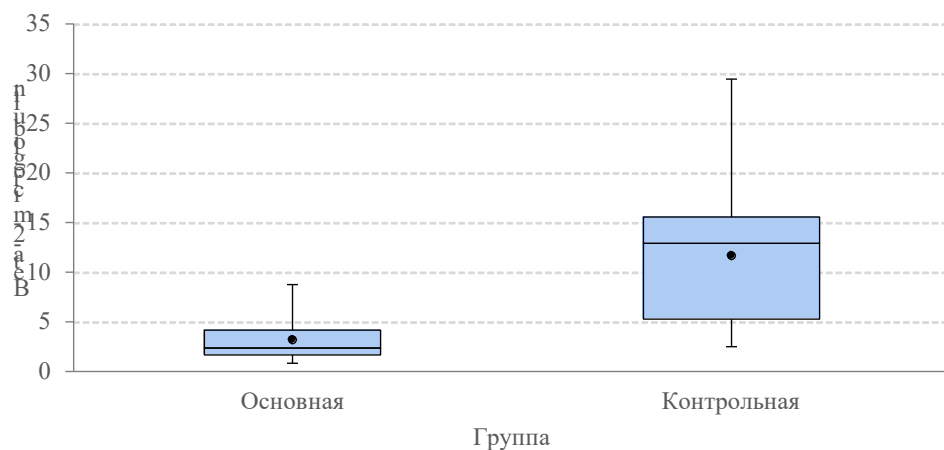
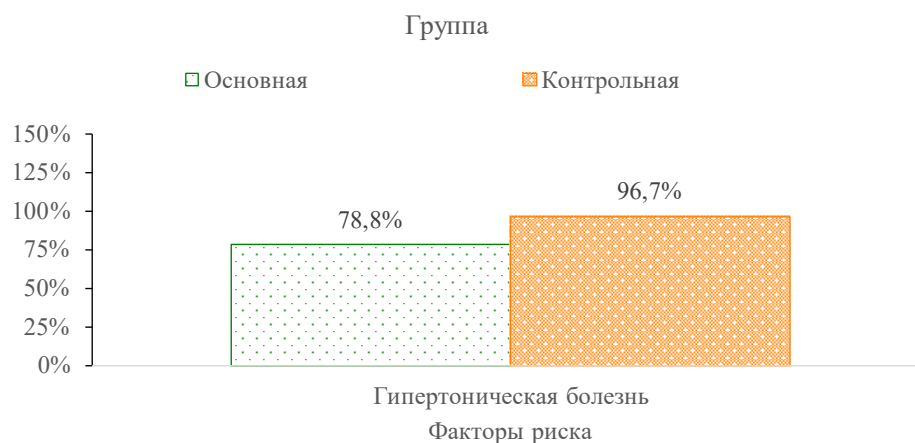


Рисунок 13 – Диаграммы размаха по показателю «Beta-2-microglobulin» на момент поступления в основной и контрольной группах

Анализ факторов риска показал статистически значимое различие для показателя «Гипертоническая болезнь» в контрольной группе по отношению к основной группе (на 17,9%; $P = 0,0237$) (Таблица 5, Рисунок 14).

Таблица 5 – Анализ встречаемости сопутствующих заболеваний у пациентов

Показатель	Группа		Всего	Уровень P (df = 1)
	Основная (N = 80)	Контрольная (N = 30)		
Факторы риска				
Гипертоническая болезнь	63 (78,75%)	29 (96,67%)	92	0,0237
Ишемическая болезнь сердца	20 (25,00%)	10 (33,33%)	30	0,3821
Сахарный диабет	5 (6,25%)	0 (0,00%)	5	0,1611

**Рисунок 14** – Частота встречаемости гипертонической болезни у пациентов

При анализе вовлеченности правых и левых глаз в патологический процесс не обнаружены статистически значимые различия между группами сравнения (Таблица 6).

Таблица 6 – Распределение исследуемых глаз у пациентов основной и контрольной групп

Глаз	Группа		Уровень P (df = 1)
	Основная (N = 80)	Контрольная (N = 30)	
OD	45 (56,25%)	18 (60,00%)	0,7233
OS	35 (43,75%)	12 (40,00%)	

Анализ пациентов по полу не обнаружил достоверных отличий между исследуемыми группами. Наибольшие различия наблюдаются по мужскому полу, который преимущественно встречается в основной группе по сравнению с группой контроля (52,5% vs 33,3% соответственно) (Таблица 7).

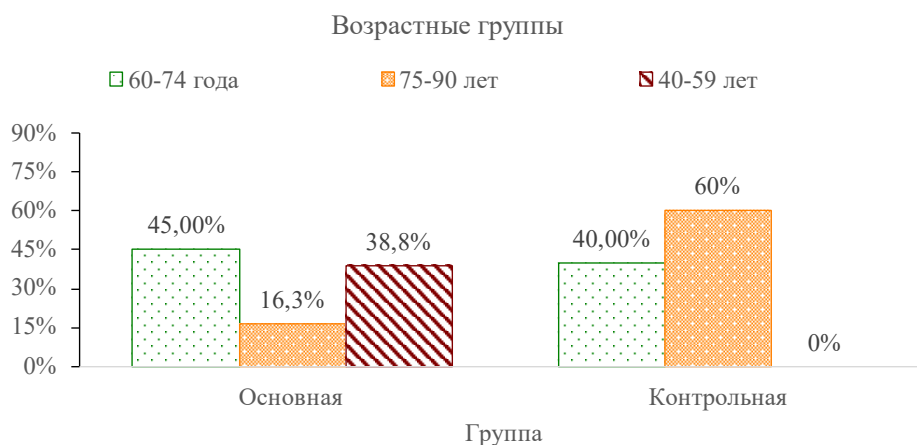
Таблица 7 – Распределение пациентов по полу в группах сравнения

Пол	Группа		Уровень P (df = 1)
	Основная (N = 80)	Контрольная (N = 30)	
Женский	38 (47,50%)	20 (66,67%)	0,0729
Мужской	42 (52,50%)	10 (33,33%)	

При сравнении пациентов по возрасту наибольшие различия наблюдаются в возрастном диапазоне «40–59 лет», который преимущественно встречается в основной группе (38,8% vs 0,0%). Наименьшее различие наблюдается у пациентов, относящихся к пожилой возрастной группе (60–74 года).

Таблица 8 – Распределение пациентов по возрасту в группах сравнения

Возрастные группы	Группа		Уровень P (df = 2)
	Основная (N = 80)	Контрольная (N = 30)	
60–74 года	36 (45,00%)	12 (40,00%)	< 0,0001
75–90 лет	13 (16,25%)	18 (60,00%)	
40–59 лет	31 (38,75%)	(0,00%)	

**Рисунок 15** – Структура соотношений возрастных групп среди пациентов основной группы и группы контроля

На основании Таблицы 8 и Рисунка 15 можно сделать вывод о том, что по возрасту пациентов обнаружены статистически значимые различия между основной и контрольной группами. Наиболее достоверные отличия получены для пациентов среднего возраста.

3.1.2. Определение взаимосвязи между уровнем miR-126, miR-155, miR-21 в крови, белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9 в слезной жидкости и типом локализации ОВС (центральная вена сетчатки или ее ветви) с изучением особенностей клинического течения.

Среди всех пациентов основной группы (80 человек) с установленным окклюзионным поражением ретинальных вен окклюзия центральной вены сетчатки наблюдалось у 63 пациентов (78,8%), а окклюзия какой-либо из ветвей ЦВС была у 17 человек (21,3%). На основании данного деления среди пациентов с ОВС сформированы две группы.

Первым этапом был проведен анализ взаимосвязи между локализацией венозной окклюзии сетчатки (основной ствол или ветвь) и уровнем miR-126, miR-155, miR-21 (как на момент поступления, так и через 6 месяцев), HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, а также мезотелина и бета-2-микроглобулина (Таблицы 9, 10, 11).

Таблица 9 – Сравнение групп пациентов с ОВС с разной локализацией патологического процесса по уровню микроРНК на момент поступления

Показатель	Окклюзия		Уровень P
	ЦВС (N = 63)	ветви ЦВС (N = 17)	
miR в плазме крови			
miR-126, поступление	2,40±4,07	2,50±3,69	0,9017
miR-155, поступление	7,32±3,31	6,84±1,92	0,7732
miR-21, поступление	1,06±4,21	1,00±3,98	0,9484

Таблица 10 – Сравнение групп пациентов с ОВС с разной локализацией патологического процесса по уровню микроРНК через 6 месяцев

Показатель	Окклюзия		Уровень P
	ЦВС (N = 63)	ветви ЦВС (N = 17)	
miR в плазме крови			
miR-126, через 6 месяцев	0,12±2,48	0,97±2,46	0,2564
miR-155, через 6 месяцев	5,76±2,40	6,04±1,33	0,7913
miR-21, через 6 месяцев	-1,78±2,49	-0,66±2,24	0,0748

На основании статистического анализа можно сделать вывод о том, что значения всех микроРНК и на момент поступления (Таблица 9), и через 6 месяцев (Таблица 10) значимо не различаются между двумя сравниваемыми группами.

По данным Таблицы 11 все изучаемые показатели среди белков в слезной жидкости, а также мезотелина и бета-2-микроглобулина статистически значимо не различаются между пациентами с окклюзией центрального ствола ретинальной вены и пациентами с окклюзией ее ветвей.

Таблица 11 – Сравнение уровней исследуемых белков в слезе в зависимости от локализации венозной окклюзии сетчатки

Показатель	Окклюзия		Уровень P
	ЦВС (N = 63)	ветви ЦВС (N = 17)	
Белки в слезе			
HSP70	1,43±1,10	1,16±1,45	0,2353
S100-A6	18,39±17,80	13,58±16,87	0,0934
S100-A8	6,98±7,14	6,52±6,33	0,6607
S100-A9	15,62±14,46	14,25±13,57	0,4041
Mesothelin	1,52±1,18	1,59±1,05	0,5248
Beta-2-microglobulin	3,07±2,40	3,75±2,11	0,1304

Вторым этапом выполнялась сравнение двух исследуемых групп пациентов по факторам риска и показателям крови. По результатам анализа данных показателей, которые представлены в Таблице 12, не было выявлено статистически значимых различий ни в одной группе.

По полу ($P > 0,6127$), возрасту ($P > 0,9376$) и глазу, на котором произошла окклюзия ($P > 0,05820$), достоверных различий между группами также не обнаружено.

По данным статистического анализа давность от начала заболевания ($P > 0,9524$), тип рефракции пациентов ($P > 0,7782$), а также тип ОВС (ишемический, неишемический) ($P > 0,4376$) не различаются у групп сравнения.

Таблица 12 – Распространенность факторов риска и изменений показателей крови у пациентов с разной локализацией окклюзии вен сетчатки

Показатель	Окклюзия		Всего	Уровень <i>P</i> (<i>df</i> = 1)
	ЦВС (<i>N</i> = 63)	ветви ЦВС (<i>N</i> = 17)		
Факторы риска				
Гипертоническая болезнь	48 (76,19%)	15 (88,24%)	63	0,2813
Ишемическая болезнь сердца	13 (20,63%)	7 (41,18%)	20	0,0826
Сахарный диабет	4 (6,35%)	1 (5,88%)	5	0,9437
Приём кроверазжижающих препаратов до болезни	10 (15,87%)	3 (17,65%)	13	0,8603
Показатели крови				
Протромбин, увеличен	8 (12,70%)	2 (11,76%)	10	0,9177
МНО, увеличен	1 (1,59%)	0 (0,00%)	1	0,6012
АЧТВ, снижен	1 (1,59%)	1 (5,88%)	2	0,3141
Фибриноген, увеличен	9 (14,29%)	3 (17,65%)	12	0,7305
Тромбиновое время, увеличено	9 (14,29%)	0 (0,00%)	9	0,0981
Холестерин, увеличен	15 (23,81%)	2 (11,76%)	17	0,2813

На основании анализа данных остроты зрения пациентов и значений внутриглазного давления достоверные различия наблюдаются только на момент поступления: максимальная корригируемая острота зрения (МКОЗ) ниже у пациентов с окклюзией ЦВС, а уровень внутриглазного давления выше у пациентов с окклюзией ветвей ретинальной вены сетчатки (Таблицы 13, 14), при анализе этих показателей, полученных спустя 6 месяцев после окклюзии, значимых отличий не обнаружено (для МКОЗ показатель $P > 0,2954$, для ВГД $P > 0,6021$).

Таблица 13 – Максимально корригируемая острота зрения у пациентов с разной локализацией ретинальной венозной окклюзии

Показатель	Окклюзия		Уровень <i>P</i>
	ЦВС (<i>N</i> = 63)	ветви ЦВС (<i>N</i> = 17)	
Зрительные функции			
МКОЗ, поступление	0,30±0,31	0,42±0,27	0,0467

Таблица 14 – Уровень внутриглазного давления у пациентов с разной локализацией ретинальной венозной окклюзии

Показатель	Окклюзия		Уровень P
	ЦВС (N = 63)	ветви ЦВС (N = 17)	
ВГД			
ВГД, мм рт. ст., поступление	16,30±2,93	18,35±3,69	0,0347

При сравнении групп пациентов с окклюзией ретинальных вен с разной локализацией патологического процесса по показателям оптической когерентной томографии центральной зоны сетчатки все характеристики статистически значимо не различаются. Среди исследуемых показателей рассматривались: отслойка нейроэпителия на момент поступления (P = 0,9673) и через 6 месяцев (P = 0,9524), наличие кистозных полостей на момент поступления (P = 0,8095) и через 6 месяцев (P = 0,9808), наличие интратинальных геморрагий на момент поступления (P = 0,3893) и через 6 месяцев (P = 0,2921) и толщина сетчатки в fovea также в оба временных периода (P = 0, 0,4587 и P = 0,7508).

При оценке ОКТ диска зрительного нерва и слоя нервных волокон сетчатки у пациентов с разной локализацией окклюзионного поражения вен сетчатки выявлены статистически значимые различия толщины СНВС с верхней, нижней и височной сторон на момент поступления и с верхней (P < 0,0001) и нижней (P = 0,0012) сторон через 6 месяцев после окклюзии. Толщина слоя нервных волокон выше при окклюзии основного ствола ретинальной вены. Наиболее значимые различия обнаружены для показателя «СНВС temporalis» (в среднем толще на 17,0 мкм; P = 0,0480); показателя «СНВС inferior» (в среднем толще на 45,6 мкм; P = 0,0005); показателя «СНВС superior» (в среднем толще на 44,0 мкм; P = 0,0002) при окклюзии ЦВС по отношению к окклюзии ветвей ЦВС.

Достоверные различия между группами сравнения наблюдаются при изучении ангио-ОКТ по показателям: площадь аваскулярной зоны на момент поступления (FAZ ниже у пациентов с окклюзией основного ствола по отношению к окклюзии ветвей в среднем на 0,1 мм²; P = 0,0265); плотность наружного кольца поверхностного сосудистого сплетения (3 mm) (при окклюзии ЦВС плотность меньше в среднем на 4,2%; P = 0,0420) (Таблица 15). Остальные показатели ангио-ОКТ и на

момент поступления, и через 6 месяцев после окклюзии статистически значимых различий не имеют.

Таблица 15 – Данные ОКТ-ангио на момент поступления у пациентов с разной локализацией ретинальной венозной окклюзии

Показатель	Окклюзия		Уровень <i>P</i>
	ЦВС (<i>N</i> = 63)	ветви ЦВС (<i>N</i> = 17)	
ОКТ angio			
Площадь аваскулярной зоны (ФАС, FAZ), мм ² , поступление	0,15±0,11	0,23±0,15	0,0265
Общая плотность поверхностного сосудистого сплетения, %, поступление	12,95±7,40	15,65±8,32	0,1772
Плотность внутреннего кольца (1,5 mm), %, поступление	12,29±7,58	14,94±8,55	0,1625
Плотность наружного кольца (3 mm), %, поступление	14,06±7,52	18,24±10,37	0,0420

По результатам статистического анализа показателей микропериметрии можно сделать вывод, что средняя светочувствительность центральной зоны сетчатки была достоверно ниже на момент поступления у пациентов с окклюзией основного ствола по отношению к пациентам с окклюзией ветви (в среднем на 3,5 дБ; $P = 0,0337$) (Рисунок 16).

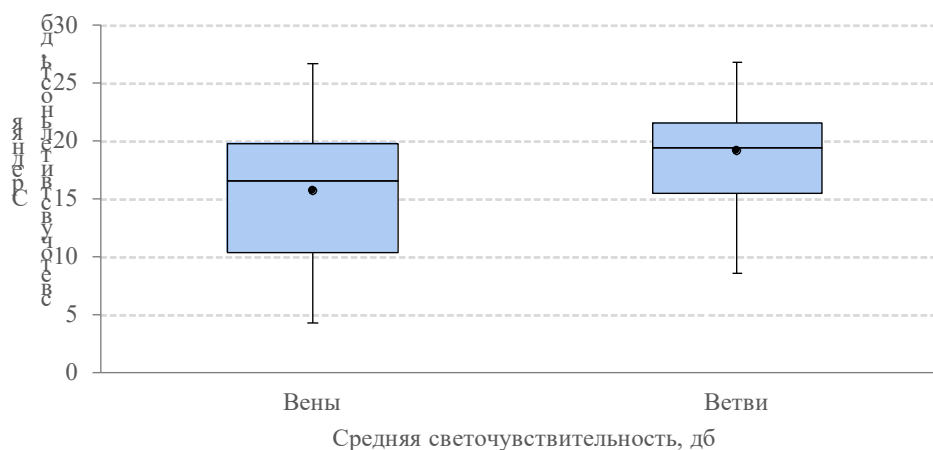


Рисунок 16 – Диаграмма размаха по показателю средняя светочувствительность (дБ) у пациентов в группах сравнения

К одним из диагностических исследований, проводимых пациентам, относится офтальмоскопия, при которой выполнялся анализ состояния глазного дна по

определенным характеристикам. Для ряда показателей не было обнаружено статистически значимых различий у пациентов с локализацией окклюзии в области основного венозного ствола и при окклюзии ветви ЦВС. К подобным изменениям относятся: интравитреальные геморрагии разного калибра и ватообразные очаги. Для этих показателей значение P как на момент поступления, так и через 6 месяцев не превышало 0,3073. Однако по большинству характеристик были обнаружены статистически значимые различия между группами пациентов. Достоверные отличия наблюдаются при описании сосудов глазного дна: наличие ангиосклероза сосудов глазного дна на момент поступления (Таблица 16, Рисунок 17), глубина экскавации диска зрительного нерва через 6 месяцев (Таблица 17), особенности цвета (Таблица 18) и границ (Таблица 19) диска зрительного нерва, как на момент поступления, так и через 6 месяцев, а также наличие симптома Салюса – Гунна через 6 месяцев после ОВС (Таблица 20).

Таблица 16 – Распространенность ангиосклероза сосудов сетчатки на момент поступления у пациентов с разной локализацией ретинальной венозной окклюзии

Показатель, период	Окклюзия		Всего	Уровень P ($df = 1$)
	ЦВС ($N = 63$)	ветви ЦВС ($N = 17$)		
Фото глазного дна (сосуды)				
Ангиосклероз сосудов сетчатки, поступление	62 (98,41%)	14 (82,35%)	76	0,0070

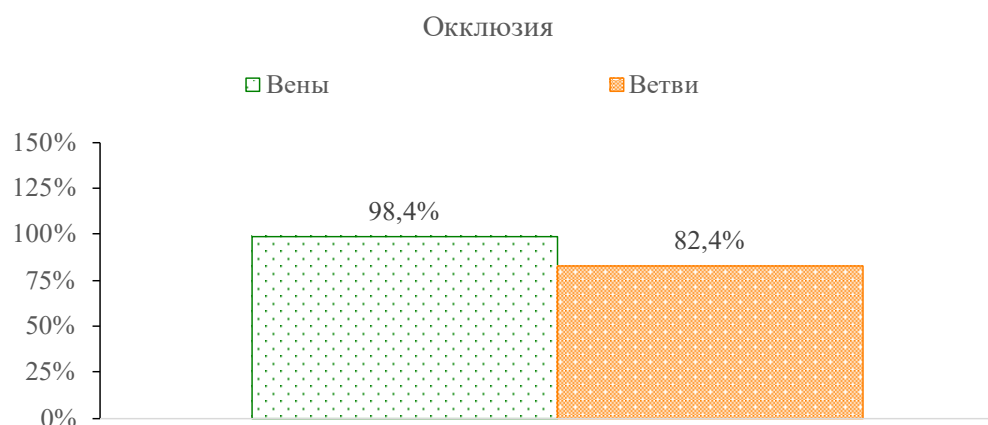


Рисунок 17 – Процент встречаемости ангиосклероза сосудов сетчатки на момент поступления в группах сравнения

Таблица 17 – Значения экскавации ДЗН у пациентов с разной локализацией рети-нальной венозной окклюзии

Показатель	Окклюзия		Уровень P
	ЦВС (N = 63)	ветви ЦВС (N = 17)	
Фото глазного дна (ДЗН)			
Эскавация, через 6 месяцев	0,51±0,19	0,39±0,17	0,0169

Таблица 18 – Характеристики границ ДЗН у пациентов с разной локализацией ре-тинальной венозной окклюзии

Границы, поступление	Окклюзия		Уровень P (df = 1)	
	ЦВС (N = 63)	ветви ЦВС (N = 17)		
Стушеваны	59 (93,65%)	8 (47,06%)	< 0,0001	
Четкие	4 (6,35%)	9 (52,94%)		
Границы, через 6 месяцев		ЦВС (N = 63)	ветви ЦВС (N = 17)	Уровень P (df = 1)
Четкие	33 (52,38%)	16 (94,12%)	0,0017	
Стушеваны	30 (47,62%)	1 (5,88%)		

Таблица 19 – Характеристики цвета ДЗН у пациентов с разной локализацией рети-нальной венозной окклюзии

Цвет, поступление	Окклюзия		Уровень P (df = 2)	
	ЦВС (N = 63)	ветви ЦВС (N = 17)		
Гиперемирован	56 (88,89%)	5 (29,41%)	< 0,0001	
Бледно-розовый	7 (11,11%)	11 (64,71%)		
Монотонный	(0,00%)	1 (5,88%)		
Цвет, через 6 месяцев		ЦВС (N = 63)	ветви ЦВС (N = 17)	Уровень P (df = 2)
Бледно-розовый	39 (61,90%)	15 (93,75%)	0,0497	
Гиперемирован	22 (34,92%)	1 (6,25%)		
Бледный	2 (3,17%)	(0,00%)		

По данным Таблицы 20 наибольшие различия между группами наблюдаются по значению «Salus III», которое преимущественно встречается в группе с окклюзией ЦВС по сравнению с группой, где наблюдается окклюзия ветвей (27,0% vs 0,0% соответственно). Наименьшее различие между группами наблюдается по значению «Salus I».

Таблица 20 – Выраженность симптома Салюса – Гунна у пациентов с окклюзией центральной вены сетчатки и с окклюзией ветвей ЦВС.

<i>Salus, через 6 месяцев</i>	<i>Окклюзия</i>		<i>Уровень P (df = 2)</i>
	<i>ЦВС (N = 63)</i>	<i>ветви ЦВС (N = 17)</i>	
salus II	27 (42,86%)	12 (70,59%)	0,0351
salus I	19 (30,16%)	5 (29,41%)	
salus III	17 (26,98%)	(0,00%)	

3.1.3. Оценка специфики клинических проявлений ОВС в зависимости от типа окклюзии (ишемический, неишемический) с определением корреляции с уровнем miR-126, miR-155, miR-21 в крови и белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9 в слезной жидкости

В результате проведения статистического анализа выявлено, что неишемический тип ретинальной венозной окклюзии встречается у 30 (37,5%) пациентов основной группы, а ишемический – у 50 (62,5%) пациентов.

Классификация ОВС по типу окклюзии легла в основу разделения пациентов на две группы в рамках данной главы.

При оценке корреляции уровней микроРНК на момент поступления и через 6 месяцев с типом ретинальной венозной окклюзии не было обнаружено значимых различий между сравниваемыми группами, что говорит об отсутствии взаимосвязи между данными показателями (Таблицы 21, 22).

Достоверных отличий не найдено также и при сравнении групп пациентов с разными типами венозной окклюзии по уровню HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, а также мезотелина и бета-2-микроглобулина (Таблица 23).

Таблица 21 – Уровни микроРНК в сыворотке крови на момент поступления у пациентов с разными типами венозной окклюзии сетчатки

<i>Показатель</i>	<i>Тип окклюзии</i>		<i>Уровень P</i>
	<i>неишемическая (N = 30)</i>	<i>ишемическая (N = 50)</i>	
<i>miR в плазме крови</i>			
miR-126, поступление	2,84±3,50	2,17±4,24	0,5711
miR-155, поступление	7,14±2,70	7,26±3,28	0,7884
miR-21, поступление	1,02±2,95	1,06±4,74	0,6404

Таблица 22 – Уровни микроРНК в сыворотке крови через 6 месяцев у пациентов с разными типами венозной окклюзии сетчатки

Показатель	Тип окклюзии		Уровень P
	неишемическая (N = 30)	ишемическая (N = 50)	
miR в плазме крови			
miR-126, поступление	0,51±2,29	0,17±2,62	0,4324
miR-155, поступление	6,22±1,96	5,58±2,34	0,1830
miR-21, поступление	-1,25±2,19	-1,72±2,62	0,1862

Таблица 23 – Сравнения групп пациентов с ОВС с разными типами окклюзии по уровню HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, а также мезотелина и бета-2-микροглобулина в слезной жидкости

Показатель	Тип окклюзии		Уровень P
	неишемическая (N = 30)	ишемическая (N = 50)	
Белки в слезе			
HSP70	1,23±1,26	1,49±1,10	0,2722
S100-A6	19,23±18,97	16,18±16,82	0,5281
S100-A8	5,34±5,30	7,86±7,68	0,2137
S100-A9	12,09±10,79	17,34±15,72	0,2327
Mesothelin	1,70±0,97	1,45±1,22	0,2933
Beta-2-microglobulin	2,86±1,55	3,43±2,72	0,9101

Не наблюдается взаимосвязи между факторами риска и типом ОВС. Показатели крови тоже достоверно не различаются у пациентов с ишемической и неишемической ретинальной венозной окклюзией (Таблица 24).

Не обнаружено зависимости типа окклюзии от того на каком глазу произошла ОВС (P = 0,1457), у пациента какого пола (P = 0,9080) и какого возраста (P = 0,9567).

Показатели давности окклюзионного процесса (P = 0,6143), уровень ВГД (как на момент поступления, так и через 6 месяцев) (P = 0,1225 и P = 0,5819 соответственно), а также тип рефракции (P = 0,5674) статистически значимо не различаются у пациентов исследуемых групп.

Таблица 24 – Распространенность факторов риска и изменений показателей крови у пациентов с разными типами окклюзии вен сетчатки

Показатель	Тип окклюзии		Всего	Уровень <i>P</i> (<i>df</i> = 1)
	неишемическая (<i>N</i> = 30)	ишемическая (<i>N</i> = 50)		
<i>Факторы риска</i>				
Гипертоническая болезнь	22 (73,33%)	41 (82,00%)	63	0,3589
Ишемическая болезнь сердца	7 (23,33%)	13 (26,00%)	20	0,7897
Сахарный диабет	1 (3,33%)	4 (8,00%)	5	0,4038
Приём кроверазжижающих препаратов до болезни	5 (16,67%)	8 (16,00%)	13	0,9376
<i>Показатели крови</i>				
Протромбин, увеличен	5 (16,67%)	5 (10,00%)	10	0,3827
МНО, увеличен	0 (0,00%)	1 (2,00%)	1	0,4357
АЧТВ, снижен	0 (0,00%)	2 (4,00%)	2	0,2673
Фибриноген, увеличен	3 (10,00%)	9 (18,00%)	12	0,3320
Тромбиновое время, увеличено	2 (6,67%)	7 (14,00%)	9	0,3149
Холестерин, увеличен	7 (23,33%)	10 (20,00%)	17	0,7242

Обнаружена достоверная зависимость между типом окклюзии и МКОЗ. Выяснено, что при ишемической ОВС острота зрения ниже, чем при неишемической в среднем на 0,2 ($P = 0,0041$) на момент поступления и также в среднем на 0,2 ($P = 0,0266$) через 6 месяцев (Таблица 25; Рисунки 18, 19).

Таблица 25 – Максимально корригируемая острота зрения у пациентов с разными типами ретиальной венозной окклюзии сетчатки

Показатель	Тип окклюзии		Уровень <i>P</i>
	неишемическая (<i>N</i> = 30)	ишемическая (<i>N</i> = 50)	
<i>Зрительные функции</i>			
МКОЗ, поступление	0,44±0,31	0,26±0,28	0,0041
МКОЗ, через 6 месяцев	0,57±0,35	0,39±0,33	0,0266

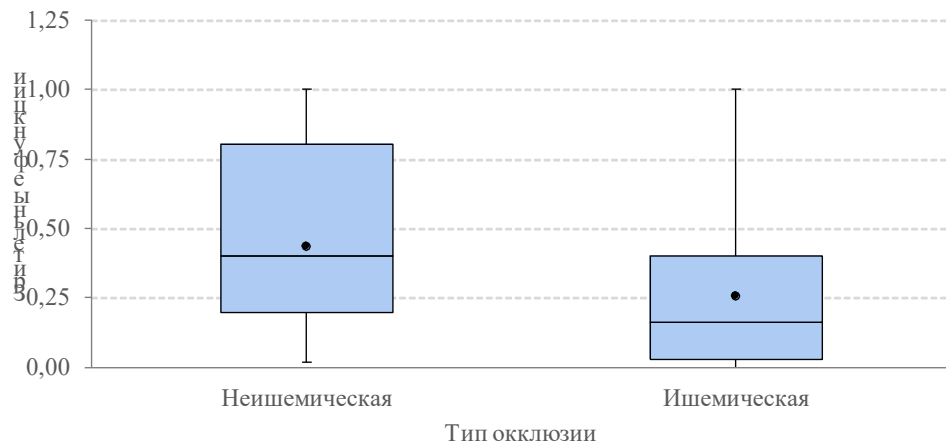


Рисунок 18 – Диаграмма размаха по показателю МКОЗ на момент поступления у пациентов в группах сравнения

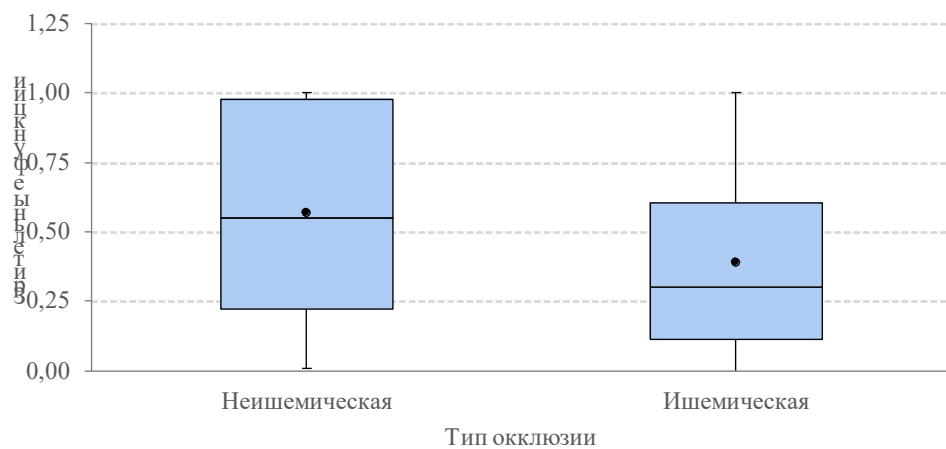


Рисунок 19 – Диаграмма размаха по показателю МКОЗ через 6 месяцев у пациентов в группах сравнения

Средняя светочувствительность на момент поступления пациентов не имеет статистически значимых различий между группами с разными типами окклюзии. Однако через 6 месяцев изменения данного показателя приобретают достоверный характер ($P = 0,0071$) (Таблица 26). На основании чего можно сделать вывод о том, что средняя светочувствительность через полгода после ишемической окклюзии ниже (в среднем на 4,0 дБ), чем при неишемическом типе.

Таблица 26 – Сравнение показателей средней светочувствительности центральной зоны сетчатки у пациентов с разными типами ОВС через 6 месяцев

Показатель	Тип окклюзии		Уровень P
	неишемическая ($N = 30$)	ишемическая ($N = 50$)	
Микропериметрия			
Средняя светочувствительность, дБ, через 6 месяцев	19,51±4,22	15,53±6,38	0,0071

Оценка данных ОКТ-диагностики осуществлялась по трем основным направлениям: ОКТ макулярной области, ангио-ОКТ центральной зоны сетчатки и ОКТ ДЗН и СНВС. По данным статистического анализа ни для одного показателя в обоих исследуемых временных периодах не было обнаружено значимых различий у пациентов групп сравнения.

При изучении данных офтальмоскопии обнаружены достоверные различия по следующим характеристикам: наличие интравитреальных штрихообразных геморрагий на момент поступления (Таблица 27), наличие малых интравитреальных геморрагий через 6 месяцев после ОВС (Таблица 28), четкость границ и цвет ДЗН через 6 месяцев (Таблица 29, 30).

Таблица 27 – Распространенность интравитреальных геморрагий у пациентов с разными типами ОВС на момент поступления

Показатель	Тип окклюзии		Всего	Уровень P (df = 1)
	неишемическая (N = 30)	ишемическая (N = 50)		
<i>Фото глазного дна</i>				
Малые интравитреальные геморрагии, поступление	30 (100,00%)	48 (96,00%)	78	0,2673
Средние интравитреальные геморрагии, поступление	12 (40,00%)	31 (62,00%)	43	0,0561
Крупные интравитреальные геморрагии, поступление	4 (13,33%)	14 (28,00%)	18	0,1283
Штрихообразные интравитреальные геморрагии, поступление	18 (60,00%)	44 (88,00%)	62	0,0037

Таблица 28 – Распространенность интравитреальных геморрагий у пациентов групп сравнения через 6 месяцев после ОВС

Показатель	Тип окклюзии		Всего	Уровень P (df = 1)
	неишемическая (N = 30)	ишемическая (N = 50)		
<i>Фото глазного дна</i>				
Малые интравитреальные геморрагии, через 6 месяцев	12 (40,00%)	37 (74,00%)	49	0,0025
Средние интравитреальные геморрагии, через 6 месяцев	5 (16,67%)	10 (20,00%)	15	0,7115
Крупные интравитреальные геморрагии, через 6 месяцев	1 (3,33%)	5 (10,00%)	6	0,2731
Штрихообразные интравитреальные геморрагии, через 6 месяцев	9 (30,00%)	25 (50,00%)	34	0,0798

В связи с тем, что ватообразные очаги являются маркером ишемического процесса в группах сравнения оценка данного показателя не производилась.

Таблица 29 – Характеристики границ ДЗН через 6 месяцев у пациентов с разными типами венозной окклюзии сетчатки

Границы ДЗН, через 6 месяцев	Тип окклюзии		Уровень <i>P</i> (<i>df</i> = 1)
	неишемическая (<i>N</i> = 30)	ишемическая (<i>N</i> = 50)	
Четкие	24 (80,00%)	25 (50,00%)	0,0077
Стушеваны	6 (20,00%)	25 (50,00%)	

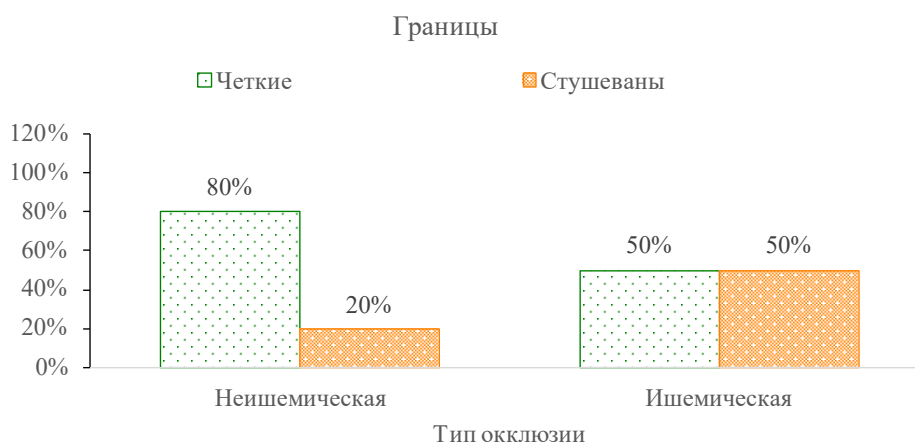


Рисунок 20 – Свойства границ ДЗН у пациентов групп сравнения через 6 месяцев после ОВС

Таблица 30 – Особенности цвета ДЗН через 6 месяцев у пациентов с ретинальной венозной окклюзией разных типов (ишемическая, неишемическая)

Границы ДЗН, через 6 месяцев	Тип окклюзии		Уровень <i>P</i> (<i>df</i> = 2)
	неишемическая (<i>N</i> = 30)	ишемическая (<i>N</i> = 49)	
Бледно-розовый	26 (86,67%)	28 (57,14%)	0,0209
Гиперемирован	4 (13,33%)	19 (38,78%)	
Бледный	(0,00%)	2 (4,08%)	

На основании статистического анализа данных офтальмоскопии можно сделать выводы, что штрихообразные интравитреальные геморрагии на момент поступления встречаются на 28,0% чаще, а интравитреальные геморрагии малого калибра через 6 месяцев после встречаются на 34,0% чаще при ишемическом типе ОВС. Диск зрительного нерва имеет стушеванные границы у пациентов через 6 месяцев после ок-

кклюзии ретинальных вен чаще на 30% по сравнению с неишемическим типом, а оттенок ДЗН через 6 месяцев после ОВС, отличный от нормального (бледно-розового), встречается чаще у пациентов с ишемическим типом окклюзии.

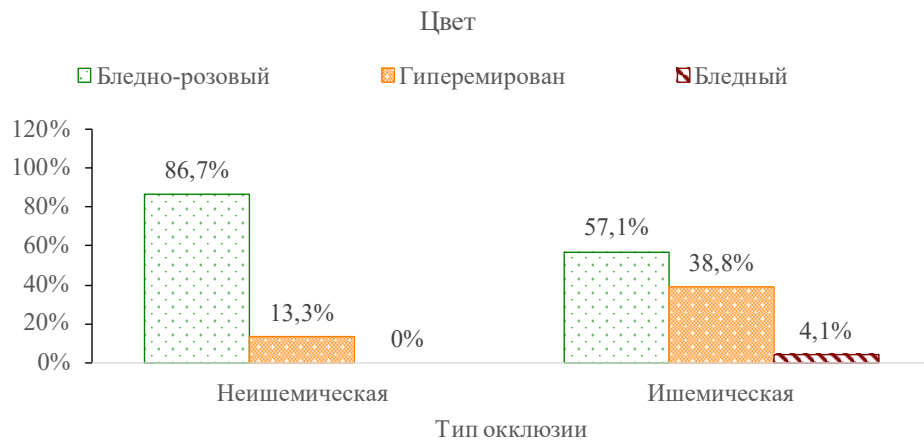


Рисунок 21 – Характеристики цвета ДЗН у пациентов с разными типами ОВС через 6 месяцев

3.2. Оценка динамики зрительных функций у пациентов с окклюзией ретинальных вен, выявление корреляции между уровнем miR-126, miR-155, miR-21 в крови, белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9 в слезной жидкости и остротой зрения в разные временные промежутки, а также обозначение факторов, оказывающих определяющее влияние на остроту зрения

В рамках данного раздела все пациенты с ОВС были разделены на две группы в зависимости от динамики МКОЗ: к первой группе относились пациенты, чье зрение через 6 месяцев осталось таким же, как в острый период или хуже, ко второй группе пациенты, чье зрение улучшилось. По данным статистического анализа острота зрения не улучшилось у 26 (32,5%) пациентов и улучшилось у 54 (67,5%) пациентов. Был проведен поиск зависимости между значениями микроРНК в крови (в оба временных периода), исследуемых белков слезной жидкости и позитивной и негативной динамикой зрительных функций в течение полугода после ОВС. В результате проведенного анализа не было обнаружено достоверных различий ни в одной исследуемой группе, ни по одному показателю (Таблица 31). На основании чего можно сделать вывод, что динамика зрительных функций не связана с уровнем miR-126, miR-155, miR-21 в крови и белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина, бета-2-микроглобулина в слезной жидкости.

Таблица 31 – Оценка динамики МКОЗ в зависимости от уровня микроРНК в крови и исследуемых белков в слезе

Показатель	Зрение не улучшилось		Уровень <i>P</i>
	«-» (<i>N</i> = 54)	«+» (<i>N</i> = 26)	
<i>miR в плазме крови</i>			
miR-126, поступление	1,98±3,94	3,33±3,95	0,0921
miR-155, поступление	7,17±2,95	7,31±3,34	0,9019
miR-21, поступление	0,56±4,06	2,05±4,20	0,1137
miR-126, через 6 месяцев	0,18±2,57	0,54±2,33	0,6366
miR-155, через 6 месяцев	5,76±2,28	5,94±2,12	0,8938
miR-21, через 6 месяцев	-1,50±2,68	-1,63±2,00	0,8533
<i>Белки в слезе</i>			
HSP70	1,24±1,12	1,59±1,22	0,2619
S100-A6	17,07±18,88	17,74±15,94	0,5945
S100-A8	6,09±6,56	7,95±7,37	0,2500
S100-A9	14,02±14,18	17,15±14,26	0,1998
Mesothelin	1,51±1,08	1,58±1,25	0,9526
Beta-2-microglobulin	3,53±2,65	2,75±1,74	0,4961

Вторым этапом производился поиск факторов, оказывающих наибольшее влияние на динамику зрительных функций группы пациентов, чья острота зрения не изменилось или ухудшилась. Среди показателей, измерение которых происходило на момент поступления, достоверные различия между исследуемыми группами обнаружены только для признака, характеризующего степень расширения вен (Таблица 32).

Таблица 32 – Степень расширение вен на момент поступления у пациентов групп сравнения

Расширение вен, поступление	Зрение не улучшилось		Уровень <i>P</i> (<i>df</i> = 1)
	«-» (<i>N</i> = 54)	Уровень <i>P</i> (<i>df</i> = 1)	
Умеренное	42 (77,78%)	12 (46,15%)	0,0047
Значимое	12 (22,22%)	14 (53,85%)	

Анализ данного признака дает основания полагать, что значимое расширение вен на момент поступления является прогностически негативным фактором для остроты зрения пациента. Все остальные показатели на момент поступления не показали статистически значимых различий у пациентов с разной динамикой зрительных функций. Определение достоверных отличий между группами сравнения по показателям, полученным через 6 месяцев после острой окклюзии, позволяют выделить факторы, изменение которых в ту или иную сторону оказывает наибольшее влияние на остроту зрения пациентов. К данным факторам относятся: средняя светочувствительность сетчатки ($P = 0,0005$) (Рисунок 22), толщина сетчатки в fovea ($P = 0,0025$) (Рисунок 23), площадь аваскулярной зоны ($P = 0,0053$) и плотность внутреннего кольца поверхностного сосудистого сплетения макулярной зоны ($P = 0,0295$), наличие кистозных полостей в центральной зоне сетчатки ($P = 0,0376$) (Рисунок 24), а также значимое расширение вен сетчатки ($P = 0,0061$) (Таблица 33).

Таблица 33 – Показатели, оказывающие влияние на остроту зрения пациентов через 6 месяцев после ОВС

Показатель, через 6 месяцев	Зрение не улучшилось		Уровень P
	«-» ($N = 54$)	«+» ($N = 26$)	
<i>Микропериметрия</i>			
Средняя светочувствительность, дБ	18,71±5,17	13,53±6,05	0,0005
<i>ОКТ macula</i>			
Толщина сетчатки в fovea, мкм	359,69±168,26	617,88±494,34	0,0025
<i>ОКТ angio</i>			
Площадь аваскулярной зоны (ФАС, FAZ), мм ²	0,20±0,10	0,13±0,12	0,0053
Общая плотность поверхностного сосудистого сплетения, %	13,43±6,65	11,65±9,48	0,0802
Плотность внутреннего кольца (1,5 mm), %	12,83±6,48	10,12±7,91	0,0295
Плотность наружного кольца (3 mm), %	15,07±7,11	13,31±9,54	0,0906
<i>ОКТ macula</i>			
Отслойка нейроэпителия	13 (24,07%)	11 (42,31%)	0,0955
Наличие интравитреальных геморрагий	12 (22,22%)	7 (26,92%)	0,6435
Наличие кистозных полостей	24 (44,44%)	18 (69,23%)	0,0376
<i>Расширение вен</i>			
Умеренное	39 (72,22%)	10 (40,00%)	0,0061
Значимое	15 (27,78%)	15 (60,00%)	

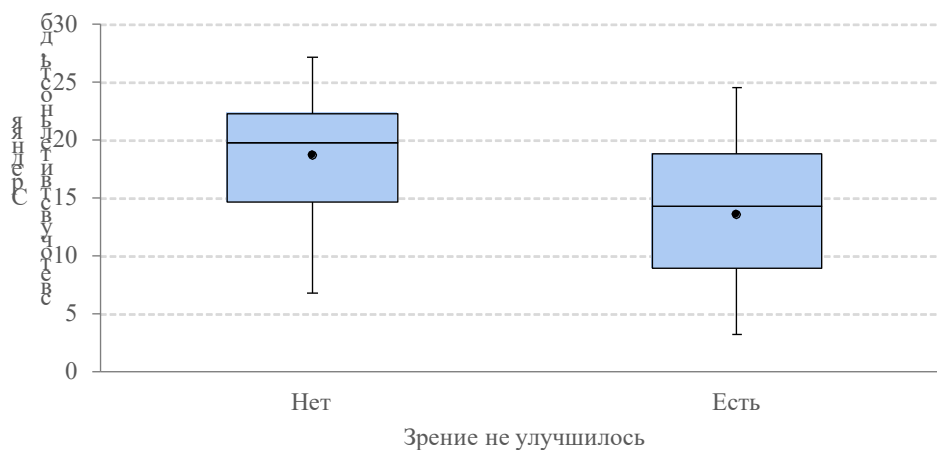


Рисунок 22 – Диаграмма размаха по показателю *средняя светочувствительность сетчатки* среди пациентов групп сравнения через 6 месяцев

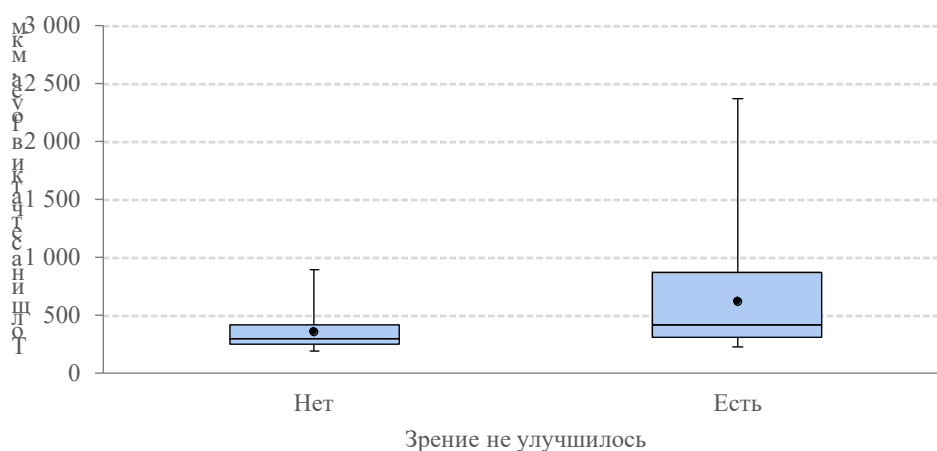


Рисунок 23 – Диаграмма-размаха по показателю *толщина сетчатки в fovea* среди пациентов групп сравнения через 6 месяцев

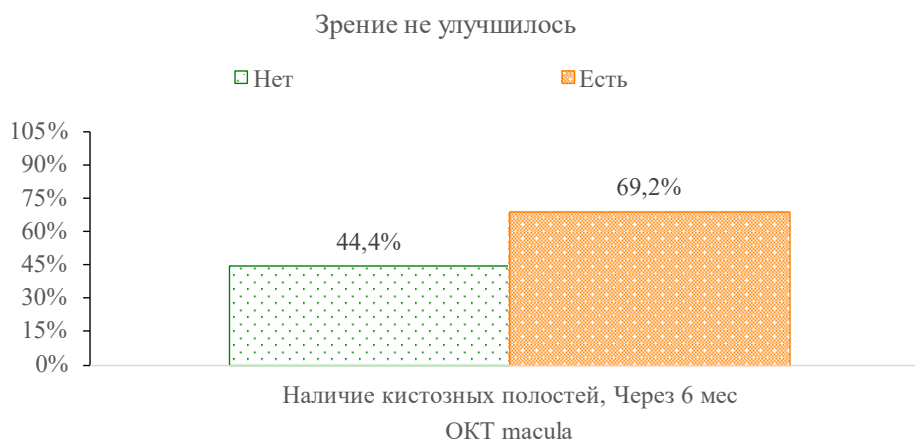


Рисунок 24 – Процент встречаемости кистозных полостей среди пациентов с разной динамикой остроты зрения через 6 месяцев

На основании статистического анализа вышеизложенных признаков можно сделать вывод о том, что более низкая острота зрения через полгода после рети-

нальной венозной окклюзии связана со снижением светочувствительности центральной зоны сетчатки, увеличением толщины (развитием отека) макулярной зоны, уменьшением площади аваскулярной зоны и плотности сосудов внутреннего кольца поверхностного сосудистого сплетения сетчатки, появлением или сохранением кистозных полостей в сетчатке, а также значимым расширением вен.

3.3. Анализ динамики показателей miR-126, miR-155, miR-21 в крови и клинических характеристик в зависимости от типа ОВС (ишемический, неишемический) во временном интервале 6 месяцев

Следующим этапом исследования было проведение анализа показателей микроРНК в динамике, при котором сравнивались значения, полученные на момент поступления пациентов и через 6 месяцев после. При проведении анализа данных показателей все пациенты были разделены на две группы в зависимости от типа окклюзии, т. к. наиболее часто это характеристика определяет тяжесть клинического течения патологического процесса.

По данным статистического анализа можно сделать вывод о том, что в рассматриваемый период времени 5 из 6 исследуемых показателей микроРНК статистически значимо изменяются. Наиболее существенные изменения обнаружены для показателя miR-126 (среди пациентов с ишемической окклюзией) (в среднем меньше на 2,0; $P = 0,0002$); показателя miR-155 (среди пациентов с ишемической окклюзией) (в среднем меньше на 1,7; $P = 0,0001$); показателя miR-21 (среди пациентов с ишемической окклюзией) (в среднем меньше на 2,8; $P < 0,0001$) (Таблица 33).

Таблица 33 – Анализ динамики показателей микроРНК на момент поступления и через 6 месяцев у пациентов с разными типами ОВС

Тип окклюзии	Показатель	$M \pm S$, поступление	$M \pm S$, через 6 месяцев	Динамика	Уровень P
Неишемическая	miR-126	2,84±3,50	0,51±2,29	-82,13%	0,0047
Неишемическая	miR-155	7,14±2,70	6,22±1,96	-12,84%	0,0519
Неишемическая	miR-21	1,02±2,95	-1,25±2,19	-221,93%	0,0036
Ишемическая	miR-126	2,17±4,24	0,17±2,62	-92,04%	0,0002
Ишемическая	miR-155	7,26±3,28	5,58±2,34	-23,14%	0,0001
Ишемическая	miR-21	1,06±4,74	-1,72±2,62	-262,05%	< 0,0001

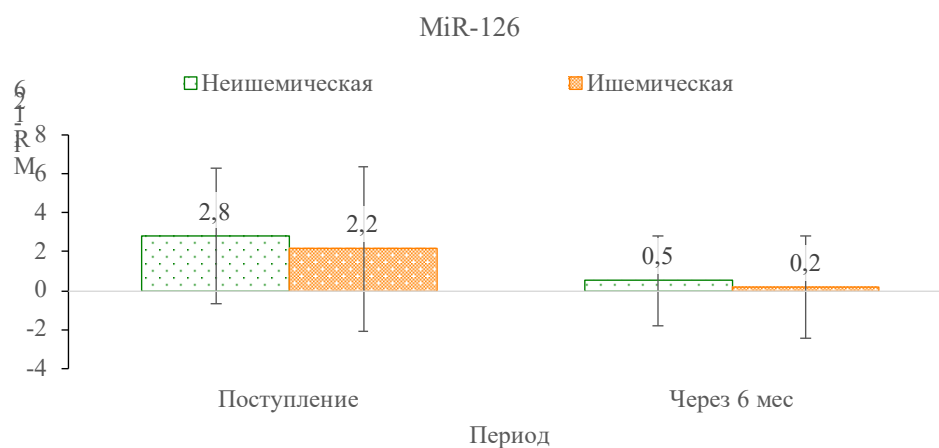


Рисунок 25 – Динамика показателя miR-126 в течение 6 месяцев у пациентов с разными типами ретинальной венозной окклюзии

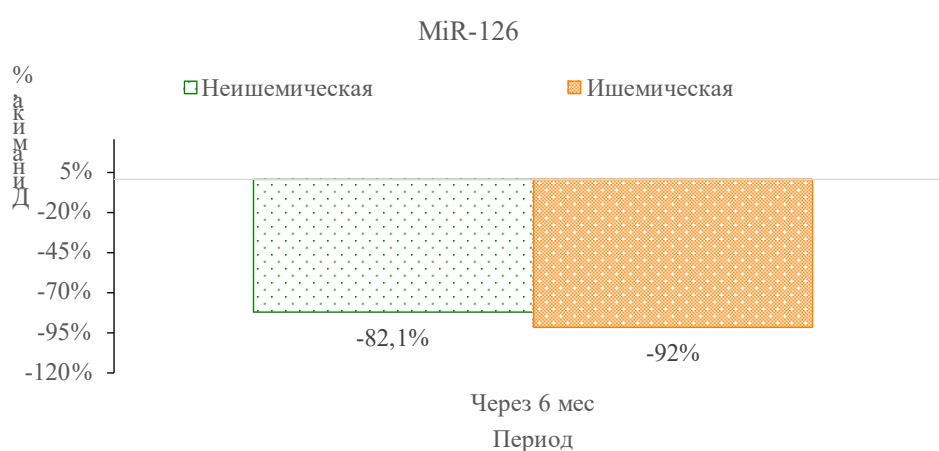


Рисунок 26 – Динамика показателя miR-126 (в процентах) в течение 6 месяцев у пациентов с разными типами ретинальной венозной окклюзии

Колебание динамики показателя miR-126 по всем группам изменяется от минус 92,0% до минус 82,1%. На основании Таблицы 33 и Рисунков 25, 26 можно прийти к заключению, что содержание данной микроРНК в сыворотке крови пациентов снижается в течение полугода после возникновения ОВС вне зависимости от типа окклюзии.

Колебание динамики показателя miR-155 по всем группам изменяется от минус 23,1% до минус 12,8%. На основании Таблицы 33 и Рисунков 27, 28 можно прийти к заключению, что содержание данной микроРНК в сыворотке крови пациентов достоверно снижается в течение полугода после возникновения ОВС у пациентов с ишемическим типом окклюзии, при неишемическом типе динамика miR-155 была статистически незначима.

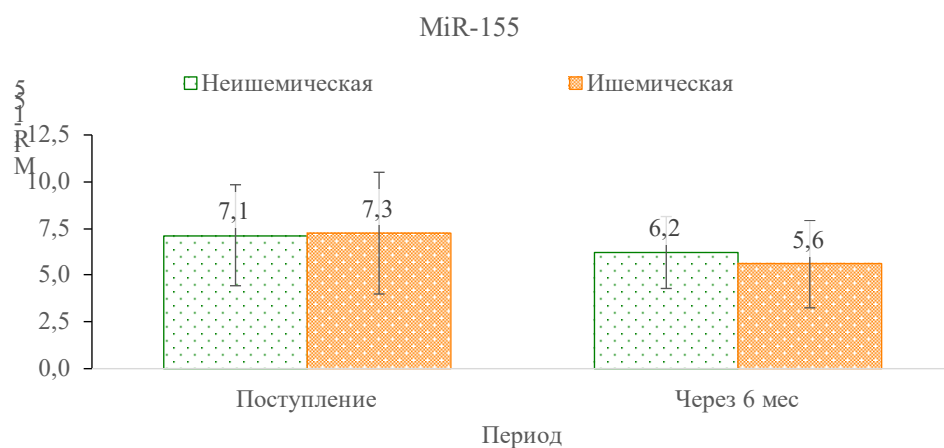


Рисунок 27 – Динамика показателя miR-155 в течение 6 месяцев у пациентов с разными типами ретиальной венозной окклюзии

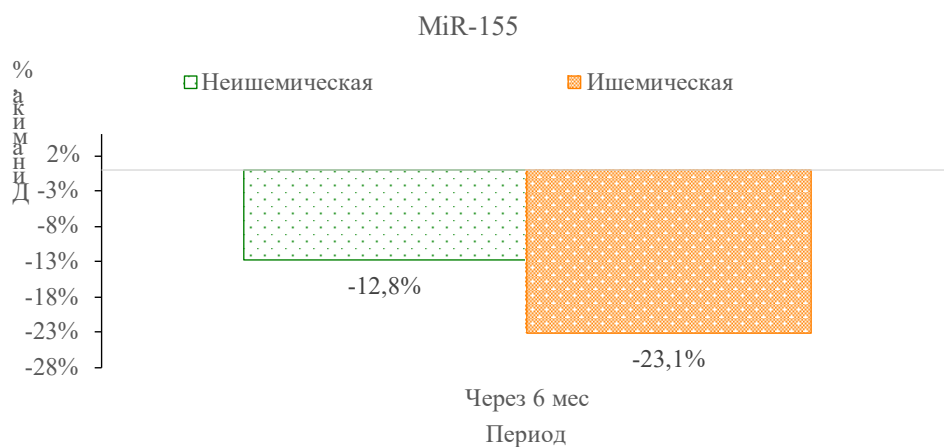


Рисунок 28 – Динамика показателя miR-155 (в процентах) в течение 6 месяцев у пациентов с разными типами ретиальной венозной окклюзии

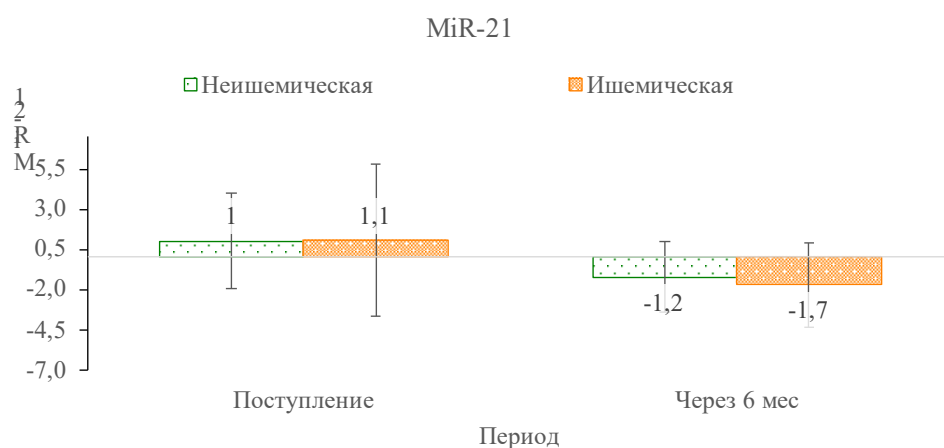


Рисунок 29 – Динамика показателя miR-21 в течение 6 месяцев у пациентов с разными типами ретиальной венозной окклюзии

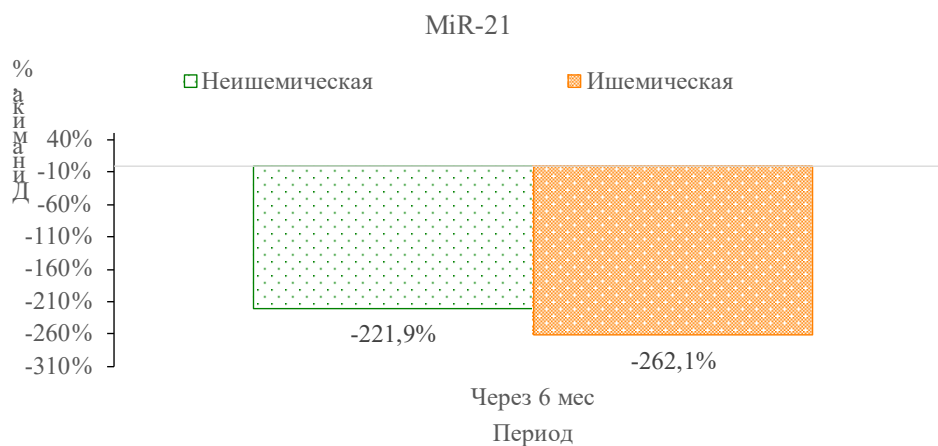


Рисунок 30 – Динамика показателя miR-21 (в процентах) в течение 6 месяцев у пациентов с разными типами ретинальной венозной окклюзии

Колебание динамики показателя miR-21 по всем группам изменяется от минус 262,1% до минус 221,9%.

На основании Таблицы 33 и Рисунков 29, 30 можно прийти к заключению, что содержание данной микроРНК в сыворотке крови пациентов снижается в течение полугода после возникновения ОВС вне зависимости от типа окклюзии.

По результатам сравнения ряда клинических характеристик, полученных у пациентов на момент поступления и через 6 месяцев, были выявлены статистически значимые динамические изменения.

К данным клиническим характеристикам относятся: функциональные показатели макулы, уровень внутриглазного давления, толщина слоя нервных волок сетчатки (по данным ОКТ ДЗН), экскавация диска зрительного нерва и ряд показателей, полученных с помощью ангио режима ОКТ центральной зоны сетчатки.

Среди функциональных показателей макулы достоверные динамические изменения обнаружены по МКОЗ, как при ишемической, так и при неишемической окклюзии (наблюдается улучшение остроты зрения в обеих группах) (Рисунок 31) и по средней светочувствительности сетчатки при неишемической окклюзии (наблюдается увеличение светочувствительности макулярной зоны) (Таблица 34).

Таблица 34 – Динамика функциональных показателей макулы на момент поступления и через 6 месяцев у пациентов с разными типами ОВС

Тип окклюзии	Показатель	$M \pm S$, поступление	$M \pm S$, через 6 месяцев	Динамика	Уровень P
Неишемическая	МКОЗ	0,44±0,31	0,57±0,35	30,28%	0,0010
Ишемическая	МКОЗ	0,26±0,28	0,39±0,33	51,48%	< 0,0001
Неишемическая	Средняя светочувствительность, дб	18,10±4,07	19,51±4,22	7,79%	0,0022
Ишемическая	Средняя светочувствительность, дб	15,47±6,62	15,53±6,38	0,40%	0,0997

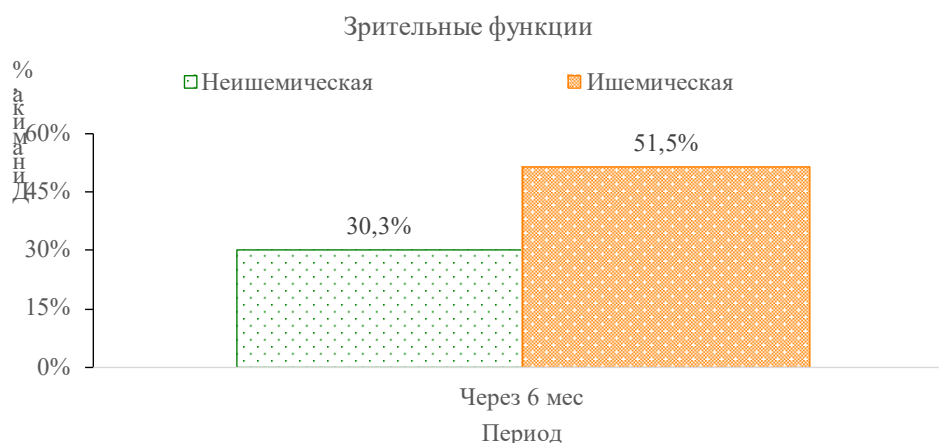


Рисунок 31 – Динамика МКОЗ (в процентах) в течение 6 месяцев у пациентов с разными типами ретинальной венозной окклюзии

Уровень ВГД достоверно увеличивается через 6 месяцев после ОВС у пациентов с ишемическим типом окклюзии в среднем на 2,0 мм рт. ст. ($P = 0,0011$) (Таблица 35, Рисунок 32).

Таблица 35 – Сравнение уровня ВГД на момент поступления и через 6 месяцев у пациентов групп сравнения

Тип окклюзии	Показатель	$M \pm S$, поступление	$M \pm S$, через 6 месяцев	Динамика	Уровень P
Неишемическая	ВГД, мм рт. ст.	17,60±3,15	18,03±2,95	2,46%	0,3345
Ишемическая	ВГД, мм рт. ст.	16,22±3,14	18,20±4,91	12,21%	0,0011

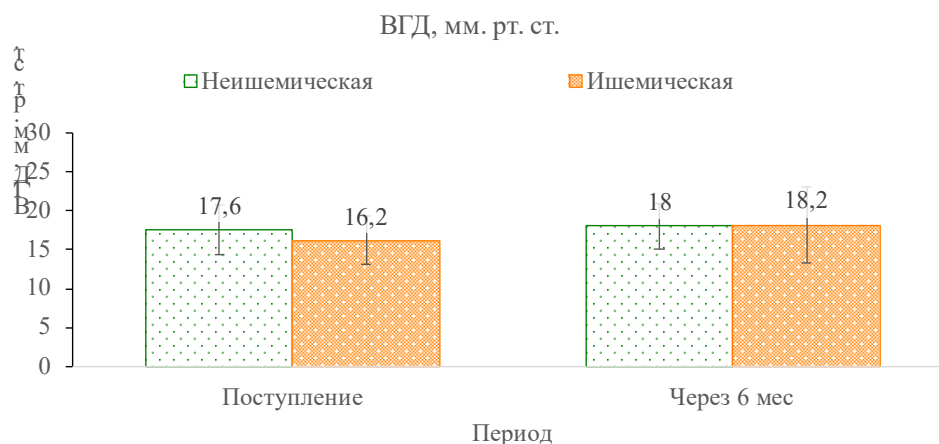


Рисунок 32 – Динамические изменения уровня внутриглазного давления в течение 6 месяцев у пациентов с разными типами ретинальной венозной окклюзии

При оценке толщины сетчатки в fovea в указанный временной промежуток статистически значимых изменений не обнаружено (уровень P составляет более 0,11 для обеих групп).

Динамика толщины слоя нервных волокон представлена в Таблице 36.

Таблица 36 – Динамика толщины слоя нервных волокон сетчатки через 6 месяцев после острого нарушения кровообращения по ретинальным венам с учетом типа окклюзии

Тип окклюзии	Показатель	$M \pm S$, поступление	$M \pm S$, через 6 месяцев	Динамика	Уровень P
Неишемическая	Толщина СНВС superior, мкм	157,03±41,34	129,13±41,24	-17,77%	0,0002
Неишемическая	Толщина СНВС inferior, мкм	159,23±47,87	124,40±41,23	-21,88%	< 0,0001
Неишемическая	Толщина СНВС nasalis, мкм	95,67±36,74	80,63±24,84	-15,71%	0,0002
Неишемическая	Толщина СНВС temporalis, мкм	98,13±48,75	78,37±28,23	-20,14%	< 0,0001
Ишемическая	Толщина СНВС superior, мкм	172,18±44,32	145,54±39,94	-15,47%	< 0,0001
Ишемическая	Толщина СНВС inferior, мкм	170,52±54,28	140,62±41,67	-17,53%	< 0,0001
Ишемическая	Толщина СНВС nasalis, мкм	94,22±29,16	83,98±24,74	-10,87%	< 0,0001
Ишемическая	Толщина СНВС temporalis, мкм	100,94±40,86	83,26±27,32	-17,52%	< 0,0001

Достоверные отличия обнаружены для всех пациентов вне зависимости от типа окклюзии во всех областях сканирования. Наиболее значимые изменения об-

наружены для пациентов с неишемическим типом окклюзии, где показатель толщины СНВС в нижнем секторе (inferior) за 6 месяцев снизился в среднем на 34,8 мкм ($P < 0,0001$).

По данным статистического анализа значение эскавации ДЗН при ишемической ретинальной венозной окклюзии достоверно изменилось через 6 месяцев и составляло в среднем на 9,77% больше ($P = 0,0007$), чем на момент поступления.

При оценке параметров ангио-ОКТ выявлено, что 4 из 8 показателей статистически значимо изменяются во временном промежутке 6 месяцев (Таблица 37). Наиболее значимые и клинически важные различия обнаружены для показателя «Площадь аваскулярной зоны (ФАС, FAZ), мм²» в группе пациентов с неишемической окклюзией, где площадь аваскулярной зоны, по сравнению с измерением на момент поступления, увеличивается в среднем на 18,65% ($P = 0,0288$) (Рисунки 33, 34). Достоверные различия также обнаружены для показателей плотности поверхностного сосудистого сплетения макулы при ишемической окклюзии (с течением времени плотность сосудов снизилась).

Таблица 37 – Сравнение показателей ангио-ОКТ на момент поступления и через 6 месяцев у пациентов с разными типами венозной окклюзии сетчатки.

Тип окклюзии	Показатель	$M \pm S$, поступление	$M \pm S$, через 6 месяцев	Динамика	Уровень P
Неишемическая	Площадь аваскулярной зоны (ФАС, FAZ), мм ²	0,16±0,09	0,19±0,11	18,65%	0,0288
Неишемическая	Общая плотность поверхностного сосудистого сплетения, %	13,70±7,13	13,60±7,61	-0,73%	0,2743
Неишемическая	Плотность внутреннего кольца (1,5 mm), %	13,10±7,38	13,03±7,39	-0,51%	0,1858
Неишемическая	Плотность наружного кольца (3 mm), %	14,60±7,35	15,30±8,13	4,79%	0,6071
Ишемическая	Площадь аваскулярной зоны (ФАС, FAZ), мм ²	0,17±0,14	0,17±0,12	-0,36%	0,2815
Ишемическая	Общая плотность поверхностного сосудистого сплетения, %	13,42±7,98	12,40±7,74	-7,60%	0,0183
Ишемическая	Плотность внутреннего кольца (1,5 mm), %	12,70±8,13	11,30±6,83	-11,02%	0,0421
Ишемическая	Плотность наружного кольца (3 mm), %	15,16±8,91	14,02±7,90	-7,52%	0,0166

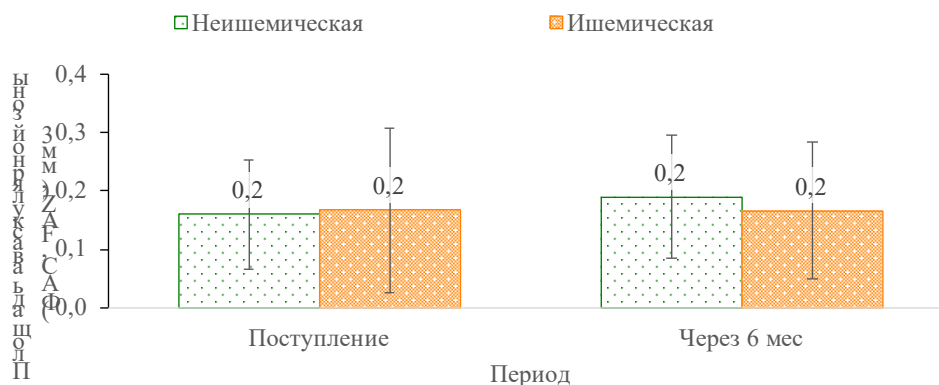


Рисунок 33 – Динамика площади аваскулярной зоны у пациентов с разными типами ОВС в течение 6 месяцев

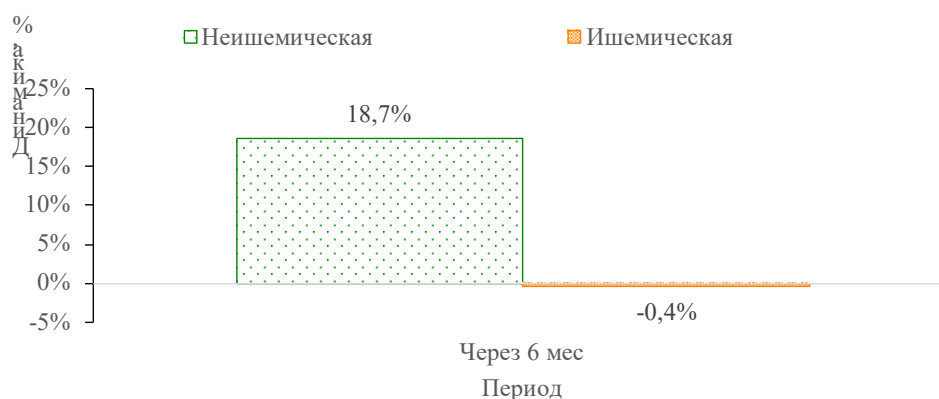


Рисунок 34 – Динамика площади аваскулярной зоны (в процентах) у пациентов с разными типами ОВС в течение 6 месяцев

Клинический пример № 1

Пациент Ш., 65 лет.

Диагноз: OS Неишемическая окклюзия центральной вены сетчатки.

Visus при поступлении / через 6 месяцев: 0,2 sph + 1,25 D = 0,8/0,6 sph + 1,00 D = 1,0.

miR 126 при поступлении / через 6 месяцев: 3,07/1,90.

miR 155 при поступлении / через 6 месяцев: 9,64/8,25.

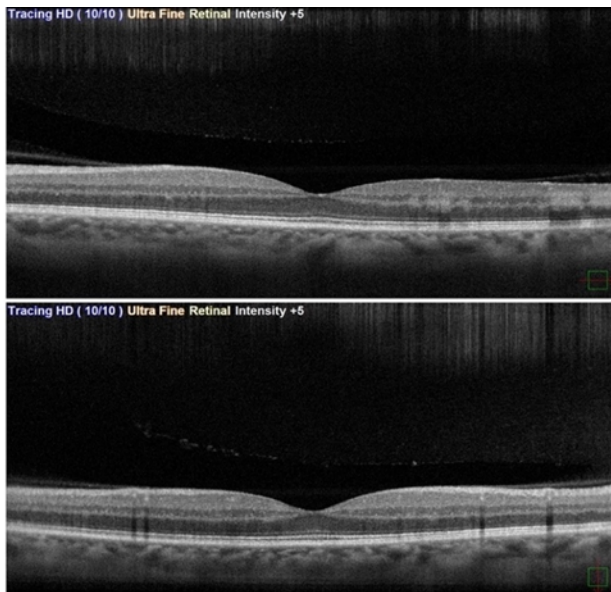
miR 21 при поступлении / через 6 месяцев: 1,44/0,15.

Толщина сетчатки в fovea на момент поступления / через 6 месяцев: 247/254 мкм.

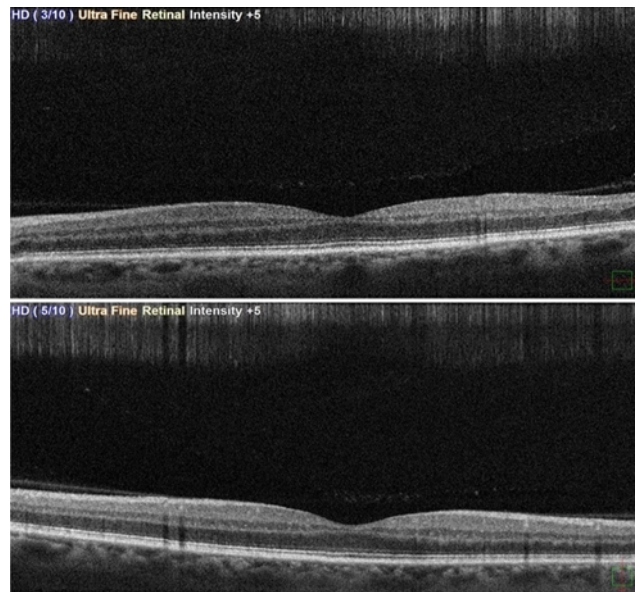
Светочувствительность на момент поступления / через 6 месяцев: 25,9/25,6 дБ.



Рисунок 35 – Фоторегистрация глазного дна на момент поступления

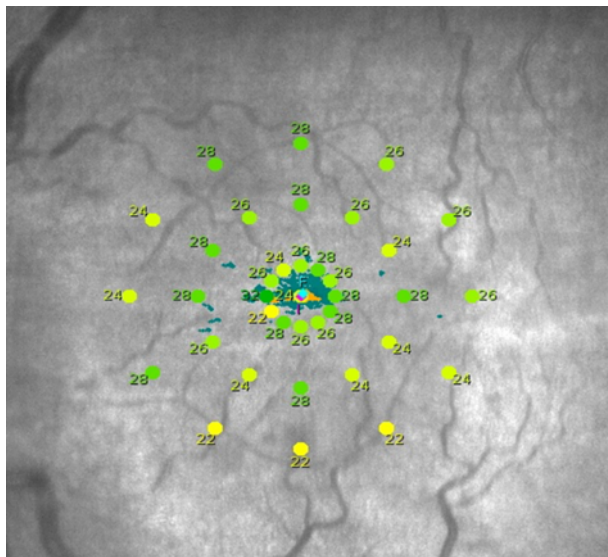


А. На момент поступления

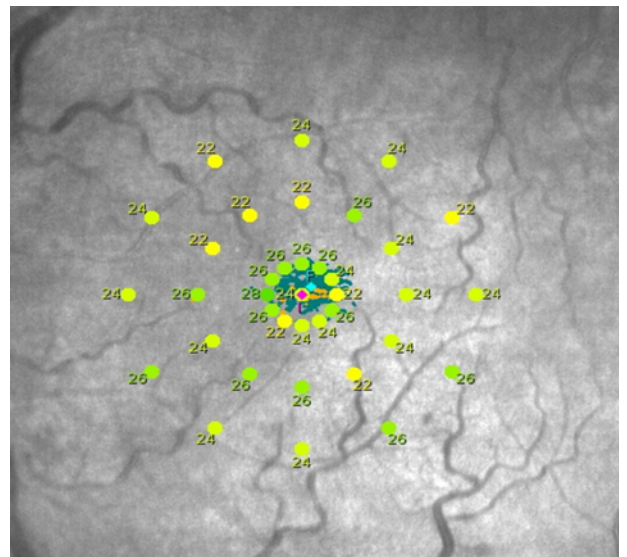


Б. Через 6 месяцев

Рисунок 36 – ОКТ центральной зоны сетчатки



А. На момент поступления



Б. Через 6 месяцев

Рисунок 37 – Микропериметрия

Клинический пример № 2

Пациент Б., 61 год.

Диагноз: OD Неишемическая окклюзия центральной вены сетчатки.

Visus при поступлении / через 6 месяцев: 0,1 sph + 1,0 D = 0,2 / 0,1 sph + 1,0 D = 0,5.

miR 126 при поступлении / через 6 месяцев: 9,72 / -0,67.

miR 155 при поступлении / через 6 месяцев: 16,29 / 7,10.

miR 21 при поступлении / через 6 месяцев: -2,03 / -3,41.

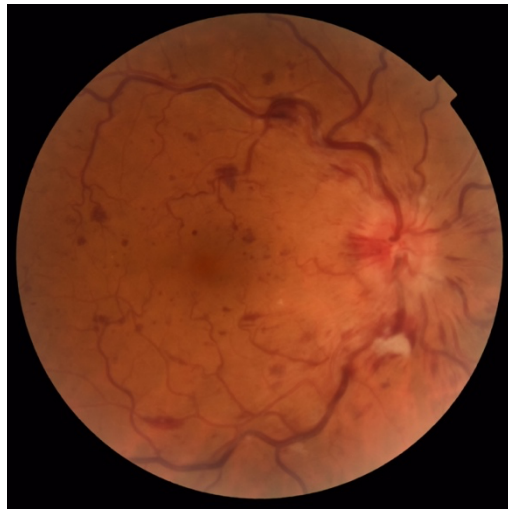
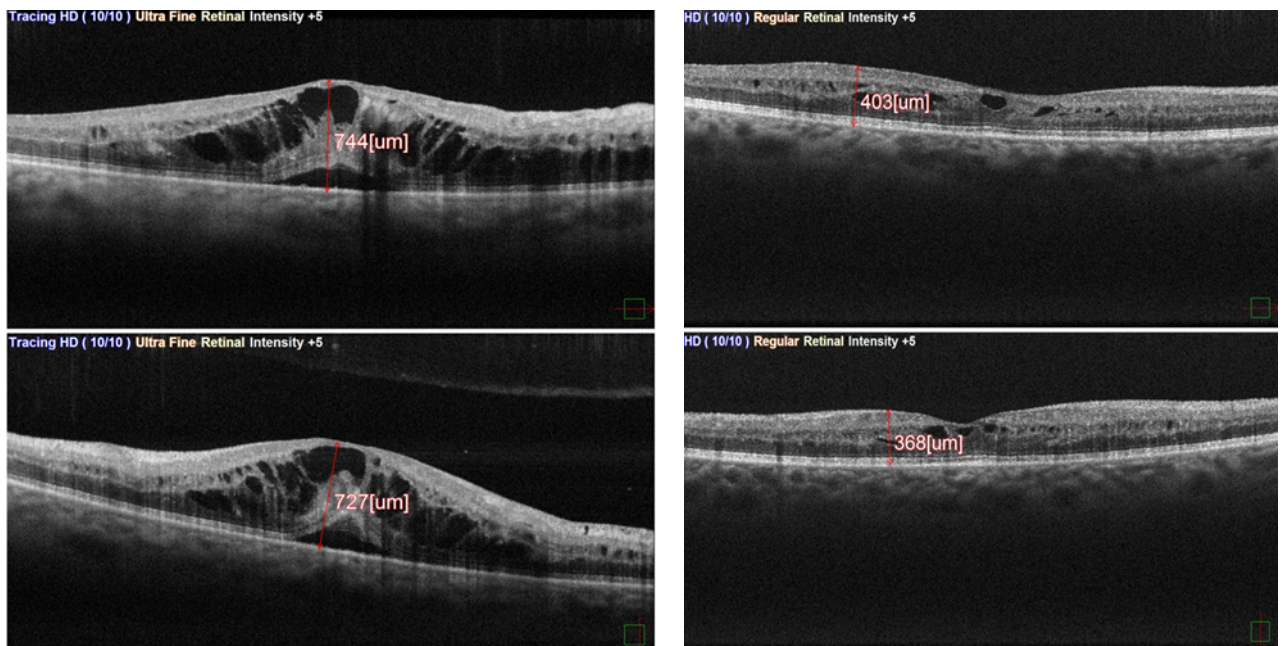


Рисунок 38 – Фоторегистрация глазного дна на момент поступления

Толщина сетчатки в fovea на момент поступления / через 6 месяцев: 744 / 303 мкм.

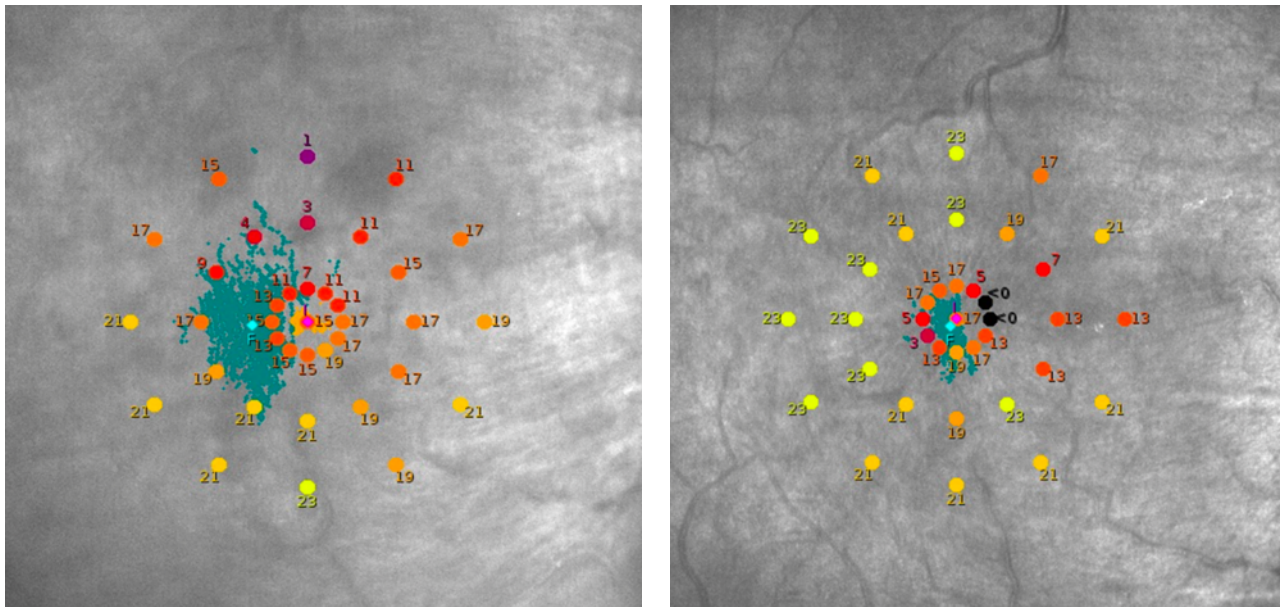


А. На момент поступления

Б. Через 6 месяцев

Рисунок 39 – ОКТ центральной зоны сетчатки

Светочувствительность на момент поступления / через 6 месяцев: 15,1/16,6 дБ.



А. На момент поступления

Б. Через 6 месяцев

Рисунок 40 – Микропериметрия

3.4. Выявление основных факторов риска, определяющих негативные прогностические перспективы течения окклюзии ретинальных вен

Одним из основных критериев тяжёлого течения окклюзии ретинальных вен является низкая острота зрения. В рамках данного раздела было произведено однофакторное прогнозирование для основных статистически значимых показателей, которые в наибольшей степени могли повлиять на отсутствие положительной динамики со стороны остроты зрения в течение 6 месяцев после ОВС. Среди потенциальных причин, рассматривались только бинарные и количественные показатели, из которых был составлен список из 20 ключевых факторов влияния на целевой показатель «Зрение не улучшилось» (Таблица 38). Под относительным риском в таблице подразумевается отношение риска наступления определенного события у лиц с ретинальной окклюзией по отношению к группе контроля. Относительный риск равный 1 означает, что разница в риске между двумя группами отсутствует, риск < 1 , что событие в основной группе развивается реже, чем в контрольной, а риск > 1 означает, что в основной группе событие развивается чаще. Доверительный интервал (ДИ) для показателей составлял 95%.

Таблица 38 – Ключевые факторы, влияющие на отсутствие положительной динамики зрительных функций через 6 месяцев после окклюзии ретинальных вен (оценки абсолютных рисков, изменение риска, относительный риск)

Фактор	Зрение не улучшилось, частота (риск, %)		Изменение риска (95%-й ДИ), %	Относительный риск (95%-й ДИ)	Уровень P
	«-»	«+»			
Площадь аваскулярной зоны (ФАС, FAZ), мм ² (через 6 месяцев) < 0,1	11 (19,0%)	15 (68,2%)	49,2 (27,3; 71,1)	3,6 (1,97; 6,58)	< 0,0001
Средняя светочувствительность, дБ (через 6 месяцев) < 19,7	3 (9,7%)	23 (46,9%)	37,3 (19,8; 54,7)	4,85 (1,59; 14,80)	0,0005
Плотность внутреннего кольца (1,5 mm), % (через 6 месяцев) < 11,0	7 (17,1%)	19 (48,7%)	31,6 (12,2; 51,1)	2,85 (1,35; 6,03)	0,0025
Толщина сетчатки в fovea, мкм (через 6 мес) ≥ 303,0	5 (14,7%)	21 (45,7%)	30,9 (12,3; 49,6)	3,1 (1,30; 7,40)	0,0035
Расширение вен (поступление) (Значимое)	12 (22,2%)	14 (53,8%)	31,6 (9,5; 53,8)	2,42 (1,31; 4,47)	0,0047
Плотность наружного кольца (3 mm), % (через 6 месяцев) < 9,0	17 (25,8%)	9 (64,3%)	38,5 (11,3; 65,8)	2,5 (1,42; 4,40)	0,0052
miR-21 (поступление) ≥ 1,7	11 (21,6%)	15 (51,7%)	30,2 (8,8; 51,6)	2,4 (1,28; 4,50)	0,0056
Расширение вен (через 6 месяцев) (Значимое)	10 (20,4%)	15 (50,0%)	29,6 (8,4; 50,7)	2,45 (1,27; 4,73)	0,0061
miR-126 (поступление) ≥ 1,8	7 (17,9%)	19 (46,3%)	28,4 (8,9; 47,8)	2,58 (1,22; 5,45)	0,0067
Площадь аваскулярной зоны (ФАС, FAZ), мм ² (поступление) < 0,1	15 (25,0%)	11 (55,0%)	30,0 (5,6; 54,4)	2,2 (1,22; 3,97)	0,0131
Наличие кистозных полостей (через 6 месяцев) (Есть)	8 (21,1%)	18 (42,9%)	21,8 (2,0; 41,6)	2,04 (1,00; 4,13)	0,0376
S100-A8 ≥ 1,9	3 (20,0%)	22 (50,0%)	30,0 (4,9; 55,1)	2,5 (0,87; 7,18)	0,0423
miR-126 (через 6 месяцев) ≥ -2,3	1 (8,3%)	25 (36,8%)	28,4 (9,0; 47,8)	4,41 (0,66; 29,56)	0,0525
S100-A9 ≥ 7,1	6 (26,1%)	19 (51,4%)	25,3 (1,2; 49,4)	1,97 (0,92; 4,19)	0,0536
Плотность внутреннего кольца (1,5 mm), % (поступление) < 14,0	8 (21,6%)	18 (41,9%)	20,2 (0,4; 40,1)	1,94 (0,95; 3,93)	0,0540
Общая плотность поверхностного сосудистого сплетения, % (через 6 мес.) < 11,0	12 (24,5%)	14 (45,2%)	20,7 (-0,6; 41,9)	1,84 (0,99; 3,45)	0,0545
Средние интравитреальные геморрагии (Через 6 мес.) (Есть)	18 (27,7%)	8 (53,3%)	25,6 (-1,8; 53,1)	1,93 (1,04; 3,56)	0,0560
Толщина СНВС superior, мкм (Поступление) < 180,0	8 (22,2%)	18 (40,9%)	18,7 (-1,2; 38,6)	1,84 (0,91; 3,73)	0,0758
Толщина СНВС inferior, мкм (через 6 мес.) < 160,0	5 (19,2%)	21 (38,9%)	19,7 (-0,3; 39,6)	2,02 (0,86; 4,76)	0,0787

На основании данных из Таблицы 38 можно сделать вывод о том, что 13 из 20 факторов имеют статистически значимое влияния на целевую переменную с диапазоном уровней рисков от 42,9% до 78,9%. Лидирующими факторами являются: «Площадь аваскулярной зоны (ФАС, FAZ), мм² (через 6 месяцев) < 0,1» и

«Средняя светочувствительность, дб (через 6 месяцев) < 19,7». Наличие хотя бы одного из ключевых факторов повышает уровень риска ухудшения или сохранения зрения на прежних значениях более чем в 3,6 раза.

Для улучшения качества и увеличения скорости диагностики, а также для формирования более точного прогноза течения заболевания предложено разделение пациентов на рискованные классы с помощью комбинаций факторов, определяющих негативные прогностические перспективы зрительных функций с использованием ранжирования по уровню риска. Для решения данной задачи хорошо зарекомендовал себя метод деревьев классификации. При формировании данного дерева классификаций рассматривались только количественные и номинальные показатели, полученные у пациентов на момент поступления.



Рисунок 41 – Дерево классификаций для показателей, определяющих отсутствие положительной динамики зрительных функций

Всего с помощью дерева-решений было выделено 4 рискованных класса (Таблица 39, Рисунок 41). Наибольшая вероятность (Риск = 75,0%, Объем группы = 12) отсутствия положительной динамики со стороны остроты зрения наблюдается у пациентов со следующей комбинацией факторов: $miR-126 \geq 1,8$ и площадь аваскулярной зоны (ФАС, FAZ), $мм^2 < 0,1$. Наименьшая вероятность (Риск = 6,5%, Объем группы = 31) отсутствия положительной динамики со стороны остроты зрения

наблюдается для следующей комбинации факторов: $miR-126 < 1,8$ и толщина сетчатки в fovea, $\mu m < 454,0$.

Таблица 39 – Рисковые классы пациентов, обладающие показателями, определяющими отсутствие положительной динамики зрительных функций через 6 месяцев после окклюзии ретинальных вен, по убыванию риска

№	Определение класса	Объем группы	Доля класса, %	Риск, %
1	$miR-126 \geq 1,8$ и площадь аваскулярной зоны (ФАС, FAZ), $mm^2 < 0,1$	12	15,0	75,0
2	$miR-126 < 1,8$ и толщина сетчатки в fovea, $\mu m \geq 454,0$	8	10,0	62,5
3	$miR-126 \geq 1,8$ и площадь аваскулярной зоны (ФАС, FAZ), $mm^2 \geq 0,1$	29	36,3	34,5
4	$miR-126 < 1,8$ и толщина сетчатки в fovea, $\mu m < 454,0$	31	38,8	6,5

Для оценки прогнозного качества построенного дерева классификаций использовались такие показатели, как AuROC, чувствительность и специфичность (Таблица 40, Рисунок 42).

Таблица 40 – Прогнозные показатели качества построенного дерева-решений для показателя, определяющего отсутствие положительной динамики зрительных функций

Точка отсечения	34,5%
AuROC	0,83
Чувствительность	88,2%
Специфичность	78,4%
Эффективность	83,3%

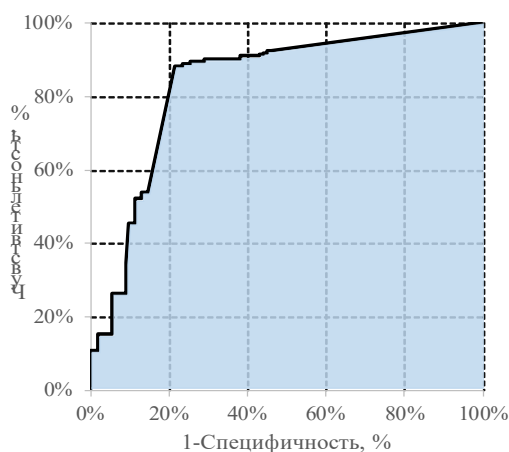


Рисунок 42 – ROC-кривая для целевого показателя, определяющего отсутствие положительной динамики зрительных функций

Значение AuROC, равной 0,83, говорит о среднем прогножном качестве смоделированного дерева-решений.

Если оценка риска $\geq 34,5\%$, то следует считать, что ожидается положительный результат, в противном случае – отрицательный.

При данном подходе в 88,2% случаях правильно будет идентифицирован положительный результат, и в 78,4% случаях правильно идентифицирован отрицательный результат.

Клинический пример № 3

Пациент С., 42 года.

Диагноз: OS Ишемическая окклюзия центральной вены сетчатки.

Visus при поступлении / через 6 месяцев: 0,05 sph - 6,0 D = 0,3/0,05 sph - 6,0 D = 0,2–0,3.

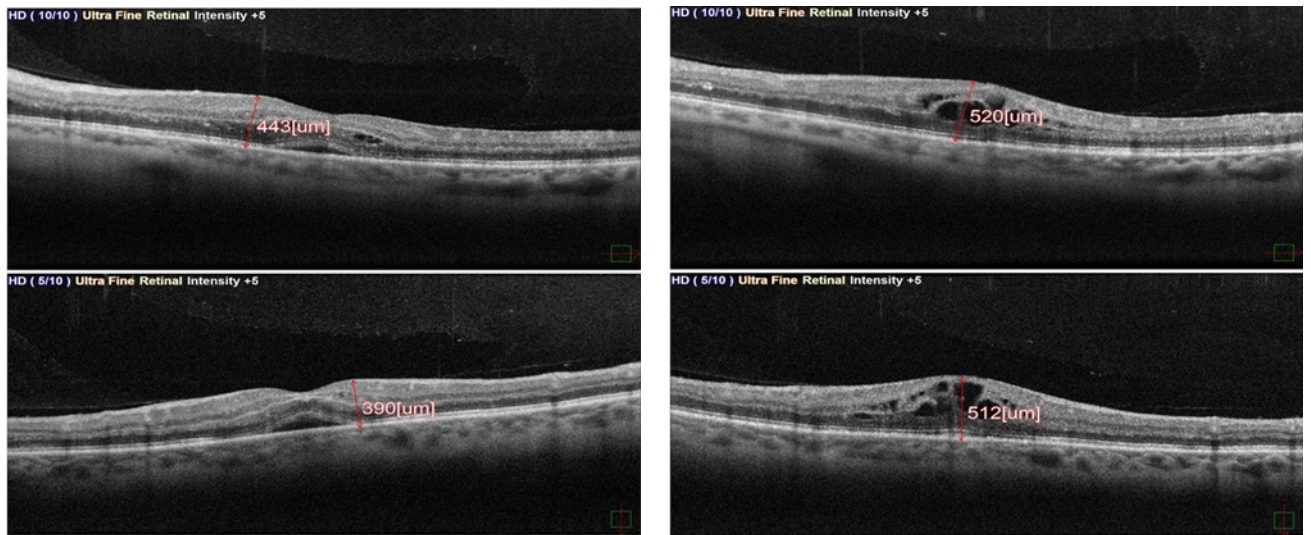
Светочувствительность на момент поступления / через 6 месяцев: 17,6/17,1 дБ.

miR-126 на момент поступления: 3,28.



Рисунок 43 – Фоторегистрация глазного дна на момент поступления

Толщина сетчатки в fovea на момент поступления / через 6 месяцев: 392/520 мкм.

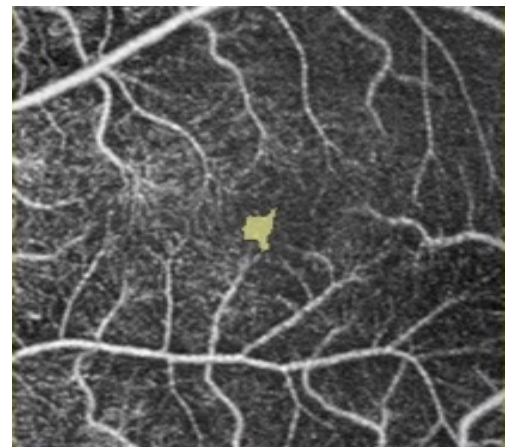
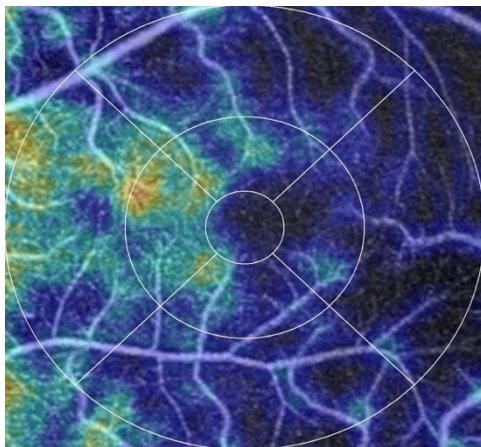


На момент поступления

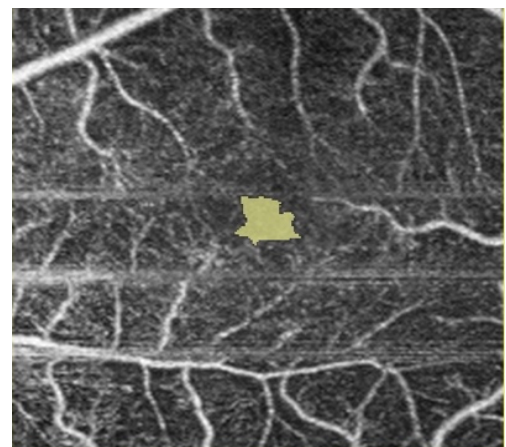
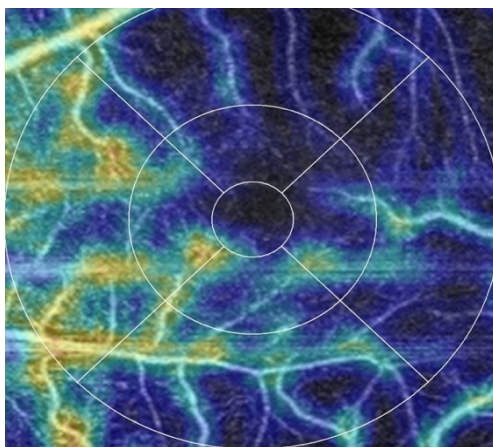
Через 6 месяцев

Рисунок 44 – ОКТ центральной зоны сетчатки

Площадь аваскулярной зоны (ФАС, FAZ) на момент поступления / через 6 месяцев: $0,03 \text{ мм}^2 / 0,07 \text{ мм}^2$.



А. На момент поступления



Б. Через 6 месяцев

Рисунок 45 – Ангио-ОКТ центральной зоны сетчатки (площадь аваскулярной зоны)

Клинический пример № 4

Пациент С., 61 год.

Диагноз: OS Неишемическая окклюзия центральной вены сетчатки.

Visus при поступлении / через 6 месяцев: 0,02 sph - 5,5 D = 0,16 / 0,05 sph - 6,0 D = 0,3.

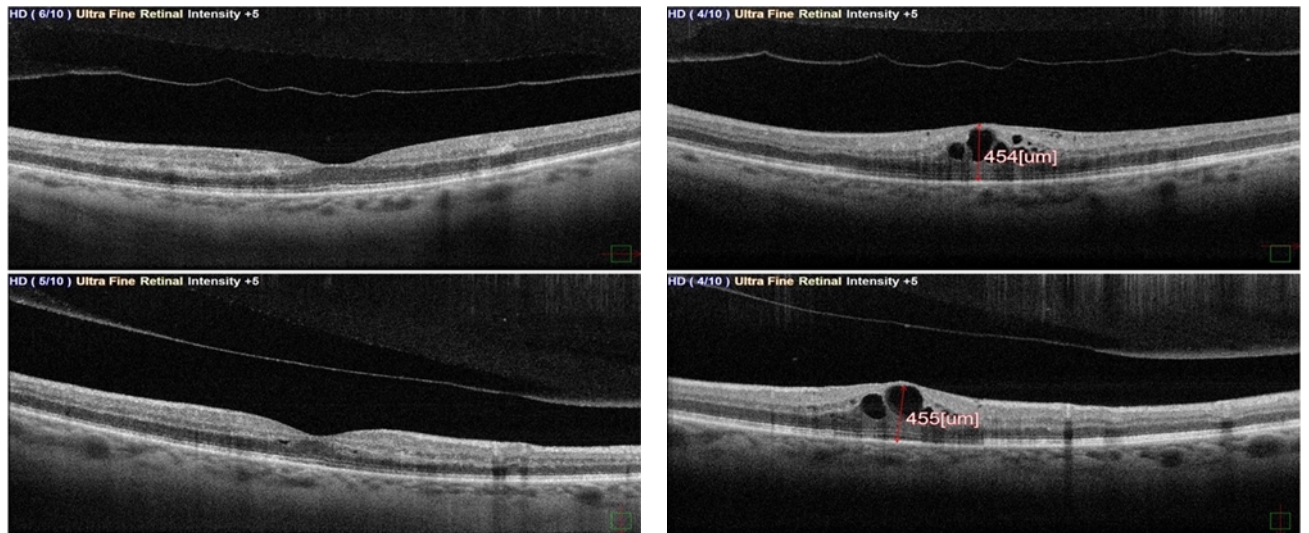
Светочувствительность на момент поступления / через 6 месяцев: 22,6 / 18,6 дБ.

miR-126 на момент поступления: -1,10.

Толщина сетчатки в fovea на момент поступления / через 6 месяцев: 387 / 454 мкм.



Рисунок 46 – Фоторегистрация глазного дна на момент поступления

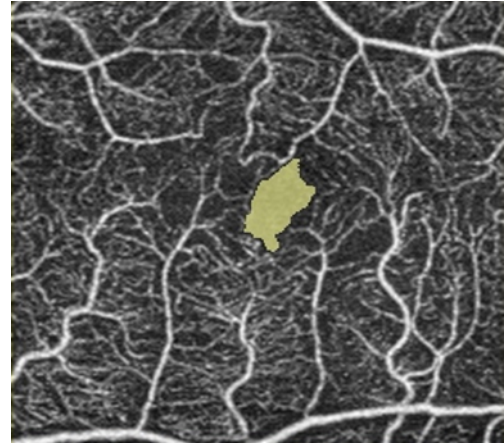
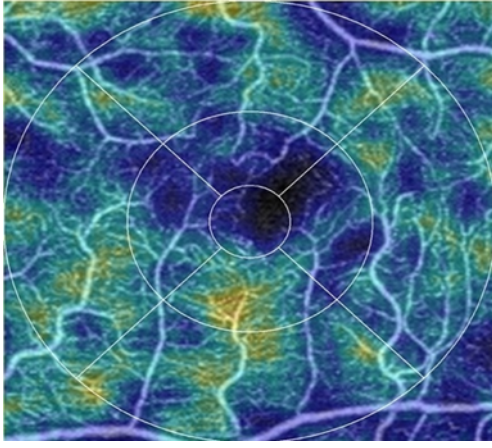


А. На момент поступления

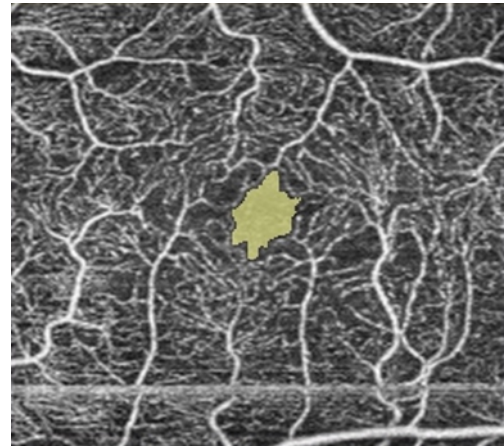
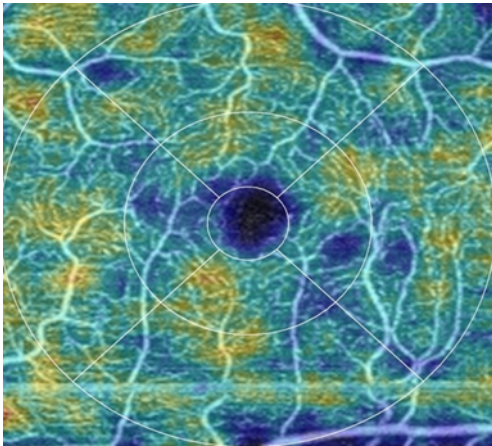
Б. Через 6 месяцев

Рисунок 47 – ОКТ центральной зоны сетчатки

Площадь аваскулярной зоны (ФАС, FAZ) на момент поступления / через 6 месяцев: 0,13 мм² / 0,12 мм².



А. На момент поступления



Б. Через 6 месяцев

Рисунок 48 – Ангио-ОКТ центральной зоны сетчатки (площадь аваскулярной зоны)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проблема диагностики и прогнозирования ретинальной венозной окклюзии в современном мире становится все более актуальной, в связи с общей тенденцией к омоложению сердечно-сосудистых заболеваний, являющихся наиболее частой причиной возникновения данной патологии. И несмотря на несомненные успехи, достигнутые в вопросах изучения клинических проявлений, диагностики и лечения окклюзии вен сетчатки в последние десятилетия, число пациентов с этой патологией продолжает расти. На сегодняшний день в отечественной литературе отсутствует информация о проведении исследований, направленных на изучение роли miR-126, miR-155, miR-21 в крови и белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина и бета-2-микροглобулина в слезной жидкости в патогенезе окклюзии ретинальных вен.

В рамках диссертационной работы проведено обследование 80 пациентов с ОВС и 30 пациентов без данной патологии. Всем пациентам с ретинальной венозной окклюзией проводились стандартные методы офтальмологического обследования, специальные офтальмологические методы обследования (фоторегистрация глазного дна, ОКТ и микропериметрия), а также осуществлялся забор крови и слезной жидкости.

Учитывая поставленную цель и задачи работы, были выделены 4 основных этапа исследования. На первом этапе исследования при сравнении 80 пациентов из основной группы и 30 пациентов из группы контроля выявлено, что у пациентов с ОВС на момент поступления уровень miR-21 ($P = 0,0282$) в сыворотке крови и белков S100-A6 ($P < 0,0001$), S100-A8 ($P < 0,0001$), S100-A9 ($P < 0,0001$), мезотелина ($P < 0,0001$) в слезной жидкости выше, чем у пациентов без данной патологии. Для бета-2-микροглобулина ($P < 0,0001$) и miR-155 ($P = 0,0163$) на момент поступления; а также miR-155 ($P < 0,0001$) и miR-126 ($P = 0,00061$) через 6 месяцев после ОВС значения при ретинальной венозной окклюзии ниже, чем у пациентов из группы контроля. При оценке данных протеомного анализа и ПЦР-диагностики в зависимости от типа окклюзии не было выявлено значимых отличий на молекулярном уровне (значение P для всех показателей было не ниже 0,0748), однако обнаружено,

что для пациентов с окклюзией основного ствола характерно более низкая МКОЗ, уровень ВГД, площадь аваскулярной зоны и плотность поверхностного сосудистого сплетения макулы на момент поступления, а также характерны значимые изменения со стороны ДЗН как на момент поступления, так и через 6 месяцев. Анализ данных молекулярной диагностики с учетом типа ОВС показал, что достоверных отличий по уровню исследуемых молекул также не наблюдается (уровень P для всех показателей был не ниже 0,01830), но при этом выявлено, что при ишемическом типе окклюзии будет снижена МКОЗ в оба временных периода, средняя светочувствительность центральной зоны сетчатки через 6 месяцев, чаще будут встречаться малые и штрихообразные интравитреальные геморрагии, а также изменения со стороны диска зрительного нерва.

Анализ данных второго этапа исследования показал, что динамика зрительных функций пациентов с окклюзией вен сетчатки не связана с уровнями miR-126, miR-155, miR-21 в сыворотке крови и белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина, бета-2-микроглобулина в слезной жидкости (уровень P для всех показателей был не ниже 0,0921). При этом обнаружено, что на момент поступления среди всех исследуемых показателей наибольшее влияние на остроту зрения оказывает калибр венозных сосудов, а через полгода после ОВС более низкая острота зрения связана со снижением светочувствительности центральной зоны сетчатки, увеличением толщины (развитием отека) макулярной зоны, уменьшением площади аваскулярной зоны и плотности сосудов внутреннего кольца поверхностного сосудистого сплетения сетчатки, появлением или сохранением кистозных полостей в сетчатке, а также значимым расширением вен.

На третьем этапе исследования анализ динамики показателей miR в сыворотке крови во временном периоде 6 месяцев продемонстрировал, что значения miR-126 и miR-21 уменьшаются (на 82,13% [$P = 0,0047$] и 221,93% [$P = 0,0036$] соответственно) в данном интервале времени у пациентов с неишемическим типом окклюзии. У показателя miR-155 уменьшение было незначительным (12,84%; $P = 0,519$). Для ишемического типа окклюзии отмечено уменьшение в динамике всех 3 показателей микроРНК: miR-155 на 23,14% ($P = 0,0001$), miR-21 на 265,05%

($P < 0,0001$), miR-126 на 92,04% ($P = 0,0002$). Кроме того, при оценке динамики клинических характеристик в изучаемом временном интервале наиболее значимые изменения обнаружены для следующих показателей: МКОЗ, которая увеличивается вне зависимости от типа ОВС; средней светочувствительности макулярной зоны, которая возрастает при неишемической окклюзии; уровня ВГД, для которого наблюдается подъем при ишемическом типе ОВС, а также для площади аваскулярной зоны, возрастающей при окклюзии вен сетчатки неишемического типа.

На последнем этапе исследования при проведении поиска ключевых факторов, определяющих негативные прогностические перспективы по зрительным функциям, выяснено, что наибольшая вероятность (риск = 75,0%) отсутствия положительной динамики со стороны остроты зрения наблюдается у пациентов со следующей комбинацией факторов: miR-126 $\geq 1,8$ и площадь аваскулярной зоны (ФАС, FAZ), $\text{мм}^2 < 0,1$. Наименьшая вероятность (риск = 6,5%) отсутствия положительной динамики со стороны остроты зрения наблюдается для следующей комбинации факторов: miR-126 $< 1,8$ и толщина сетчатки в fovea, $\text{мкм} < 454,0$.

Проведенное исследование показало, что поиск молекулярных маркеров патологических процессов является перспективным направлением в практической офтальмологии. Данные протеомного анализа и ПЦР-исследования можно использовать при проведении диагностики и формировании прогноза, а также для оценки тяжести клинического течения окклюзии ретинальных вен.

Результаты диссертационной работы внедрены в клиническую практику Московского офтальмологического центра ДЗМ ГБУЗ им. С. П. Боткина (акт внедрения от 29.06.2022). Результаты научных исследований включены в раздел № 9 «Заболевания сетчатки» основной профессиональной образовательной программы высшего образования – программа подготовки кадров высшей квалификации в ординатуре по специальности 31.08.59 Офтальмология, в учебные планы циклов повышения квалификации врачей-офтальмологов кафедры офтальмологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что у пациентов с окклюзией ретинальных вен в острый период увеличен уровень miR-21 ($P = 0,0282$) в крови, белков S100-A6 ($P < 0,0001$), S100-A8 ($P < 0,0001$), S100-A9 ($P < 0,0001$) и мезотелина ($P < 0,0001$) в слезной жидкости, уменьшен уровень бета-2-микроглобулина ($P < 0,0001$) в слезной жидкости и miR-155 ($P = 0,0163$) в сыворотке крови (по сравнению с группой контроля). Через полгода после окклюзии вен сетчатки наблюдается снижение уровня miR-155 ($P < 0,0001$), miR-126 ($P = 0,00061$) в сыворотке крови (как по сравнению с исходными значениями, так и по сравнению с группой контроля). Доказано отсутствие взаимосвязи между локализацией венозной окклюзии сетчатки (центральный ствол или ветвь), типом окклюзии (ишемический и неишемический) и уровнем miR-155, miR-21, miR-126 в сыворотки крови и белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина и бета-2-микроглобулина в слезной жидкости.

2. Определено, что динамика зрительных функций не связана с уровнем miR-126, miR-155, miR-21 в сыворотке крови и белков HSP70, S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелина, бета-2-микроглобулина в слезной жидкости.

3. Наблюдается значимая динамика показателей miR в течение полугода при обоих типах окклюзии вен сетчатки. Значения miR-126 и miR-21 уменьшаются (на 82,13% [$P = 0,0047$] и 221,93% [$P = 0,0036$] соответственно) у пациентов с неишемическим типом окклюзии вен сетчатки. Для ишемического типа окклюзии отмечено уменьшение в динамике всех 3 показателей микроРНК: miR-155 на 23,14% ($P = 0,0001$), miR-21 на 265,05% ($P < 0,0001$), miR-126 на 92,04% ($P = 0,0002$).

4. Выяснено, что у пациентов со следующей комбинацией факторов: $miR-126 \geq 1,8$ и площадь аваскулярной зоны, $mm^2 < 0,1$ – наибольшая вероятность (риск = 75,0%) негативных прогностических перспектив по зрительным функциям (в течение полугода зрение ухудшается или остается на прежних значениях).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Для повышения эффективности ранней диагностики окклюзии вен сетчатки включить в алгоритм обследования протеомный анализ слезной жидкости на белки S100-A6, S100-A8, S100-A9, мезотелин, бета-2-микроглобулин и определение уровня miR-126, miR-155, miR-21 в сыворотке крови с помощью ПЦР-диагностики у лиц с предполагаемым диагнозом окклюзии ретинальных вен.

Для пациентов с установленным диагнозом ретинальной венозной окклюзии использовать показатели miR-126, miR-155, miR-21 в сыворотке крови, полученные путем полимеразной цепной реакции, для оценки течения заболевания и формирования прогностических перспектив.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВМД	–	возрастная макулярная дегенерация
ВОЗ	–	Всемирная организация здравоохранения
ДИ	–	доверительный интервал
ДНК	–	дезоксирибонуклеиновая кислота
ДР	–	диабетическая ретинопатия
МикроРНК	–	малые некодирующие молекулы РНК
МКОЗ	–	максимально корригируемая острота зрения
НДПР	–	непролиферативная диабетическая ретинопатия
ОВС	–	окклюзия вен сетчатки
ОКТ	–	оптическая когерентная томография
ПЦР	–	полимеразная цепная реакция
ПДР	–	пролиферативная диабетическая ретинопатия
РНК	–	рибонуклеиновая кислота
СД	–	сахарный диабет
ФРГД	–	фоторегистрация глазного дна
ХНВ	–	хориоидальная неоваскуляризация
ЦВС	–	центральная вена сетчатки
цГМФ	–	циклический гуанозинмонофосфат
ЕТ-1	–	endothelin-1, эндотелин-1
FGF	–	fibroblast growth factor, фактор роста фибробластов
HSP	–	heat shock proteins, белки теплового шока
IL-1	–	interleukin-1, интерлейкин-1
IL-6	–	interleukin-6, интерлейкин-6
miR	–	microRNA, малые некодирующие молекулы РНК (микроРНК)
S100A	–	группа кальций-связывающих белков
TGF- β	–	transforming growth factor beta, трансформирующий фактор роста- β

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айтбаев, К. А. МикроРНК при ишемическом инсульте / К. А. Айтбаев, Т. И. Муркамилов, В. В. Фомин [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. Спецвыпуски. – 2018. – № 3-2. – С. 48–56.
2. Акуленко, М. В. Лазерная хирургия сосудистой патологии глаза / М. В. Акуленко, А. Г. Щуко, Т. Н. Юрьева. – Иркутск : Офтальмология, 2014. – С. 66.
3. Астахов, Ю. С. Окклюзии вен сетчатки: методические рекомендации / Ю. С. Астахов, С. Н. Тульцева. – СПб. : Эко-Вектор. – 2017. – С. 7–9.
4. Будзинская, М. В. Алгоритм ведения пациентов с ретинальными венозными окклюзиями. Сообщение 3. Неоваскулярные осложнения / М. В. Будзинская, Н. К. Мазурина, А. Е. Егоров [и др.] // Вестник офтальмологии. – 2015. – № 6. – С. 67–75.
5. Гареев, И. Ф. Роль микро-РНК в ишемическом инсульте / И. Ф. Гареев, О. А. Бейлерли // Неврологический журнал. – 2018. – № 4. – С. 166–175.
6. Исмаилова, У. С. Исследование репаративных механизмов в сетчатке и гипоталамусе, обеспечивающих восстановление родопсина в условиях дистрофии сетчатки у кроликов / У. С. Исмаилова, А. А. Мехтиев // Вестник офтальмологии. – 2018. – № 5. – С. 39–47.
7. Киселева, Т. Н. Особенности регионарного глазного кровотока при артериальной гипертензии I-II степени и субклиническом атеросклерозе / Т. Н. Киселева, М. В. Ежов, Н. А. Аджемян [и др.] // Российский офтальмологический журнал. – 2016. – № 3. – С. 26–33.
8. Королева, Ю. А. Роль микроРНК в формировании нестабильных атеросклеротических бляшек / Ю. А. Королева, М. С. Назаренко, А. Н. Кучер // Биохимия. – 2018. – № 1. – С. 34–46.
9. Кузник, Б. И. Белки теплового шока: возрастные изменения, развитие тромботических осложнений и пептидная регуляция генома / Б. И. Кузник, Н. С. Линькова, В. Х. Хавинсон // Успехи геронтологии. – 2011. – Т. 24, № 4. – С. 539–552.

10. Курышева, Н. И. Роль дисфункции эндотелия в патогенезе глаукомы / Н. И. Курышева, М. А. Царегородцева // Национальный журнал глаукома. – 2011. – № 1. – С. 58–63.

11. Кучер, А. Н. Роль микро-РНК при атерогенезе / А. Н. Кучер, М. С. Назаренко // Кардиология. – 2017. – № 9. – С. 65–76.

12. Кучер, А. Н. Роль микро-РНК, генов их биогенеза и функционирования в развитии патологических состояний у человека / А. Н. Кучер, Н. П. Бабушкина // Медицинская генетика. – 2011. – № 1. – С. 3–13.

13. Максимова, М. Ю. Нейроспецифические белки в оценке состояния ткани мозга при атеротромботическом инсульте / М. Ю. Максимова, В. Г. Ионова, Е. Н. Сыскина [и др.] // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2011. – № 3. – С. 4–10.

14. Михайлова, М. А. Иммунометаболические изменения при окклюзионных поражениях вен сетчатки : дис. ... канд. мед. наук : 14.01.07 / Михайлова Мария Андреевна. – М., 2014. – 115 с.

15. Мошетова, Л. К. Оценка региональной фибринолитической активности слёзной жидкости путём определения уровня D-димера у пациентов с окклюзией ретинальных вен / Л. К. Мошетова, А. Б. Косырев, Т. В. Цихончук [и др.] // Офтальмологические ведомости. – 2016. – Т. 9, № 4. – С. 18–29.

16. Мошетова, Л. К. Роль слёзной жидкости в диагностике острой сосудистой патологии сетчатки и зрительного нерва / Л. К. Мошетова, О. Ю. Яценко, Г. А. Яровая [и др.] // Российские медицинские вести. – 2004. – № 4. – С. 50–53.

17. Муха, А. Л. О клиническом значении определения некоторых гемостатических показателей в слёзной жидкости больных с сосудистыми заболеваниями сетчатки / А. Л. Муха, О. А. Маркова // Вестник офтальмологии. – 1994. – № 1. – С. 19–20.

18. Осокин, И. Г. Оптимизация хирургического лечения исходов тромбозов вен сетчатки : дис. ... канд. мед. наук : 14.01.07 / Осокин Иван Геннадьевич. – Москва, 2014. – 132 с.

19. Понасенко, О. А. Роль белка теплового шока 70 в патогенезе сердечно-сосудистой патологии / О. А. Понасенко, Л. В. Ганковская, О. А. Свитич // Медицинская иммунология. – 2019. – Т. 21, № 2. – С. 201–208.

20. Пшеничникова, М. Г. Синтез белков теплового шока (HSP) в лейкоцитах крови как показатель устойчивости к стрессорным повреждениям / М. Г. Пшеничникова, О. М. Зеленина, С. В. Круглов [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2006. – № 12. – С. 614–617.

21. Симхес, Ю. В. Роль белка S100 в патогенезе болевых синдромов / Ю. В. Симхес, С. М. Карпов, В. А. Батурич // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2016. – № 4. – С. 62–64.

22. Струкова, С. М. Основы физиологии гемостаза / С. М. Струкова. – М. : Изд. МГУ, 2013. – С. 10–12.

23. Танковский, В. Э. Тромбозы вен сетчатки / В. Э. Танковский. – М. : 4-й филиал Воениздата, 2000. – С. 260–262.

24. Тульцева, С. Н. Информативность окт-ангиографии в сочетании с исследованиями регионарной гемодинамики при окклюзии вен сетчатки / С. Н. Тульцева, Ю. С. Астахов, А. Г. Руховец [и др.] // Офтальмологические ведомости. – 2017. – Т. 10, № 2. – С. 40–49.

25. Тульцева, С. Н. Окклюзии вен сетчатки (этиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение) / С. Н. Тульцева, Ю. С. Астахов. – СПб. : Издательство Н-Л, 2010. – С. 5–6.

26. Хохлова, Д. Ю. Анализ системных факторов риска у пациентов с окклюзией вен сетчатки. / Д. Ю. Хохлова, Е. А. Дроздова // Медицинский вестник Башкортостана. – 2014. – № 2. – С. 144–147.

27. Хохлова, Д. Ю. Некоторые особенности эпидемиологии и клинического течения окклюзий вен сетчатки на современном этапе / Д. Ю. Хохлова, Е. А. Дроздова // Вестник Совета молодых учёных и специалистов Челябинской области. – 2014. – № 1. – С. 89–94.

28. Цихончук, Т. В. Тромбоз ретинальных вен: особенности патогенеза, профилактика осложнений : дис. ... канд. мед. наук : 14.01.07 / Цихончук Татьяна Вячеславовна. – Москва, 2017 – 123 с.

29. Цыбиков, Н. Н. Содержание белка теплового шока-70 и аутоантител к нему у больных с открытоугольной глаукомой / Н. Н. Цыбиков, Н. А. Юдина // Сибирский медицинский журнал. –2012. – Т. 115, № 8. – С. 72–74.

30. Шеланкова, А. В. Анализ изменений уровня эндотелина-1 в сыворотке крови у пациентов с ретинальными венозными окклюзиями / А. В. Шеланкова, М. В. Будзинская, А. А. Плюхова [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2017. – Т. 98, № 3. – С. 409–412.

31. Шелковникова, Т. В. Комплексное лечение макулярного отека у пациентов с окклюзией вен сетчатки и нарушениями в системе гемостаза / Т. В. Шелковникова, Х. П. Тахчиди, Г. В. Вавин [и др.] // РМЖ. Клиническая офтальмология. – 2018. – Т. 18, № 4. – С. 203–208.

32. Щеглова, Н. Е. Качественные характеристики miR-126, miR-155, miR-221, miR-222 у больных гипертонической болезнью и постинфарктным кардиосклерозом : Н. Е. Щеглова, М. Н. Калинин // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 2-1. – С. 127.

33. Щуко, А. Г. Классификационные критерии и основные маркеры ишемии сетчатки / А. Г. Щуко, И. В. Злобин // Тез. докл. X Съезд офтальмологов России. – М., 2017. – С. 20–23.

34. Alatas, Ö. D., Neuron-Specific Enolase, S100 Calcium-Binding Protein B, and Heat Shock Protein 70 Levels in Patients with Intracranial Hemorrhage / Ö. D. Alatas, M. Gürger [et al.]. – DOI 10.1097/MD.0000000000002007 // Medicine (Baltimore). – 2015. – № 45. – P. e2007.

35. Altunel, O. Evaluation of lamina cribrosa thickness in patients diagnosed with central retinal vein occlusion. / O. Altunel, M. Atas, S. Demircan. – DOI 10.1007/s00417-019-04401-3 // Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology. – 2019. – № 10. – P. 2087–2093.

36. Androvitsanea, A. The Pathophysiological Role of Heat Shock Response in Autoimmunity: A Literature Review / A. Androvitsanea, K. Stylianos, E. Drosadaki, I. Petrakis. – DOI 10.3390/cells10102626. – PMID: 34685607. – PMCID: PMC8533860 // *Cells*. – 2021 Oct 1. – № 10 (10). – P. 2626.

37. Angeles-Han, S. T. S100 proteins, cytokines, and chemokines as tear biomarkers in children with juvenile idiopathic arthritis-associated uveitis / S. T. Angeles-Han, V. M. Utz, S. Thornton [et al.]. – DOI 10.1080/09273948.2020.1758731 // *Ocular immunology and inflammation*. – 2021. – № 29 (7-8). – P. 1616–1620.

38. Apostolopoulos, A. Nuclear Accumulation of HSP70 in Mouse Skeletal Muscles in Response to Heat Stress, Aging, and Unloading With or Without Reloading / A. Apostolopoulos, A. Nakamura, S. Yokoyama [et al.]. – DOI 10.3389/fgene.2018.00617 // *Frontiers in genetics*. – 2018. – № 9. – P. 617.

39. Baek, J. Optic Disc Vascular Density in Normal-Tension Glaucoma Eyes with or without Branch Retinal Vessel Occlusion / J. Baek, S. J. Jeon, J. H. Kim [et al.] – DOI 10.3390/jcm10122574 // *Journal of clinical medicine*. – 2021. – № 10 (12). – P. 2574.

40. Bagheri, V. S100A12: Friend or foe in pulmonary tuberculosis? / V. Bagheri. – DOI 10.1016/j.cyto.2017.01.009 // *Cytokine*. – 2017. – № 92. – P. 80–82.

41. Bai, X. MicroRNA-126 Reduces Blood-Retina Barrier Breakdown via the Regulation of VCAM-1 and BCL2L1 in Ischemic Retinopathy / X. Bai, J. Luo, X. Zhang [et al.]. – DOI 10.1159/000454716 // *Ophthalmic Research*. – 2017. – № 3. – P. 173–185.

42. Barutta, F. MicroRNA-126 and micro-/macrovascular complications of type 1 diabetes in the EURODIAB Prospective Complications Study / F. Barutta, G. Bruno, G. Matullo [et al.]. – DOI 10.1007/s00592-016-0915-4 // *Acta diabetologica*. – 2017. – № 2. – P. 133–139.

43. Baulina, N. NGS-identified circulating miR-375 as a potential regulating component of myocardial infarction associated network / N. Baulina, G. Osmak, I. Kiselev [et al.]. – DOI 10.1016/j.yjmcc.2018.07.129 // *Journal of molecular and cellular cardiology*. – 2018. – № 121. – P. 173–179.

44. Borsky, P. Alarmins HMGB1, IL-33, S100A7, and S100A12 in Psoriasis Vulgaris / P. Borsky, Z. Fiala, Andrys C. [et al.]. – DOI 10.1155/2020/8465083. – PMID:

32377165. – PMID: PMC7180399 // *Mediators Inflamm.* – 2020 Apr 15. – № 2020. – P. 8465083.

45. Bunch, K. L. Novel Therapeutics for Diabetic Retinopathy and Diabetic Macular Edema: A Pathophysiologic Perspective / K. L. Bunch, A. A. Abdelrahman, R. B. Caldwell, R. W. Caldwell. – DOI 10.3389/fphys.2022.831616. – PMID: 35250632. – PMID: PMC8894892 // *Front Physiol.* – 2022 Feb 18. – № 13. – P. 831616.

46. Bustamante, A. Blood Biomarkers for the Early Diagnosis of Stroke: The Stroke-Chip Study / A. Bustamante, E. López-Cancio, S. Pich [et al.]. – DOI 10.1161/STROKEAHA.117.017076 // *Stroke.* – 2017. – № 9. – P. 2419–2425.

47. Călugăru, D. Management of the open angle glaucoma in patients with central/hemicentral retinal vein occlusions / D. Călugăru, M. Călugăru. – DOI 10.18240/ijo.2019.03.14. – PMID: 30918813. – PMID: PMC6423395 // *Int. J. Ophthalmol.* – 2019 Mar 18. – № 12 (3). – P. 436–441.

48. Cehofski, L. J. IL-18 and S100A12 Are Upregulated in Experimental Central Retinal Vein Occlusion. / L. J. Cehofski, A. Kruse, S. Kirkeby [et al.] // *International journal of molecular sciences.* – 2019. – № 11. – P. 3328.

49. Chen, Q. Pathogenic Role of microRNA-21 in Diabetic Retinopathy Through Downregulation of PPAR α / Q. Chen, F. Qiu, K. Zhou [et al.]. – DOI 10.2337/db16-1246 // *Diabetes.* – 2017. – № 6. – P. 1671–1682.

50. Chen, T. Y. Risk factors for central retinal vein occlusion in young adults / T. Y. Chen, A. Uppuluri, M. A. Zarbin, N. Bhagat. – DOI 10.1177/1120672120960333 // *European journal of ophthalmology.* – 2021. – № 31 (5). – P. 2546–2555.

51. Chidlow, G. Expression of inducible heat shock proteins Hsp27 and Hsp70 in the visual pathway of rats subjected to various models of retinal ganglion cell injury / G. Chidlow, J. P. Wood, R. J. Casson. – DOI 10.1371/journal.pone.0114838 // *PLoS One.* – 2014. – № 12. – P. e114838.

52. Chistiakov, D. A. The role of miR-126 in embryonic angiogenesis, adult vascular homeostasis, and vascular repair and its alterations in atherosclerotic disease / D. A. Chistiakov, A. N. Orekhov, Y. V. Bobryshev. – DOI 10.1016/j.yjmcc.2016.05.007. – PMID: 27180261 // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2016 Aug. – № 97. – P. 47–55.

53. Cho, B. J. Comparison of systemic conditions at diagnosis between central retinal vein occlusion and branch retinal vein occlusion / B. J. Cho, S. H. Bae, S. M. Park [et al.] – DOI 10.1371/journal.pone.0220880 // PLoS one. – 2019. – № 14 (8). – P. e0220880.

54. Cugati, S. Retinal vein occlusion and vascular mortality: pooled data analysis of 2 population-based cohorts / S. Cugati, J. J. Wang, M. D. Knudtson [et al.]. – DOI 10.1016/j.opht.2006.06.061 // Ophthalmology. – 2007. – № 3. – P. 520–524.

55. Cugati, S. Ten-year incidence of retinal vein occlusion in an older population: the Blue Mountains Eye Study / S. Cugati, J. J. Wang, E. Rochtchina. – DOI 10.1001/archophth.124.5.726 // Archives of ophthalmology. – 2006. – № 5. – P. 726–732.

56. Currie, R. W. Benign focal ischemic preconditioning induces neuronal Hsp70 and prolonged astrogliosis with expression of Hsp27 / R. W. Currie, J. A. Ellison, R. F. White. – DOI 10.1016/s0006-8993(00)02133-8 // Brain research. – 2000. – № 1-2. – P. 169–181.

57. David, R. Epidemiology of retinal vein occlusion and its association with glaucoma and increased intraocular pressure / R. David, L. Zangwill, M. Badarna, Y. Yassur. – DOI 10.1159/000309923. – PMID: 3186211 // Ophthalmologica. – 1988. – № 197 (2). – P. 69–74.

58. Defrêne, J. Deletion of S100a8 and S100a9 Enhances Skin Hyperplasia and Promotes the Th17 Response in Imiquimod-Induced Psoriasis / J. Defrêne, S. Berrazouane, N. Esparza [et al.]. – DOI 10.4049/jimmunol.2000087 // Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950). – 2021. – № 206 (3). – P. 505–514.

59. Demir, V. The comparison of the relationships about the presence of branch retinal vein occlusion and endothelial functions between diabetic and non-diabetic patients / V. Demir, M. T. Dogru, Z. Onaran [et al.]. – DOI 10.1097/XCE.0000000000000185. – PMID: 31942552. – PMCID: PMC6946148 // Cardiovasc. Endocrinol. Metab. – 2019 Nov 13. – № 8 (4). – P. 109–114.

60. Desjarlais, M. MicroRNA expression profile in retina and choroid in oxygen-induced retinopathy model / M. Desjarlais, J. C. Rivera, I. Lahaie [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0218282 // PLoS ONE. – 2019. – № 6. – P. e0218282.

61. Di Carlo, E. Prevention of the Onset of Age-Related Macular Degeneration / E. Di Carlo, A. J. Augustin. – DOI 10.3390/jcm10153297. – PMID: 34362080. – PMCID: PMC8348883 // J. Clin. Med. – 2021 Jul 26. – № 10 (15). – P. 3297.

62. Dulin, E. Extracellular heat shock protein 70 (HSPA1A) and classical vascular risk factors in a general population / E. Dulin, P. García-Barreno, M. C. Guisasola. – DOI 10.1007/s12192-010-0201-2 // Cell Stress Chaperones. – 2010. – № 6. – P. 929–937.

63. Ertekin, S. Evaluation of circulating miRNAs in wet age-related macular degeneration / S. Ertekin, O. Yıldırım, E. Dinç [et al.] // Molecular Vision. – 2014. – № 20. – P. 1057–1066.

64. Fang, Z. The Sequence Structures of Human MicroRNA Molecules and Their Implications / Z. Fang, R. Du, A. Edwards [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0054215 // PLoS ONE. – 2013. – № 1. – P. e54215.

65. Feltgen, N. Retinal vein occlusion: Epidemiology, classification and clinical findings / N. Feltgen, A. Pielen. – DOI 10.1007/s00347-015-0105-8. – PMID: 26162973. // Ophthalmologie. – 2015 Jul. – № 112 (7). – P. 607–620 [German].

66. Fichtlscherer, S. Circulating microRNAs in patients with coronary artery disease / S. Fichtlscherer, S. De Rosa, H. Fox [et al.] – DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.109.215566 // Circ. Res. – 2010. – № 107 (5). – P. 677–684.

67. Furukawa, A. A role of Heat Shock Protein 70 in Photoreceptor Cell Death: Potential as a Novel Therapeutic Target in Retinal Degeneration / A. Furukawa, Y. Koriyama – DOI 10.1111/cns.12471. – PMID: 26507240. – PMCID: PMC6492853 // CNS Neurosci Ther. – 2016 Jan. – № 22 (1). – P. 7–14.

68. Güler, M. Aqueous humor heat-shock protein 70, periostin, and irisin levels in patients with pseudoexfoliation syndrome / M. Güler, S. Aydın, S. Urfalıoğlu [et al.]. – DOI 10.5935/0004-2749.20200046 // Arquivos brasileiros de oftalmologia. – 2020. – № 5. – P. 378–382.

69. Haller, J. A. Presented of Retina Society / J. A. Haller. – Philadelphia, USA, 2014 Sep 11–14.

70. Hayreh, S. S. Classification of central retinal vein occlusion / S. S. Hayreh. – DOI 10.1016/s0161-6420(83)34530-9. – PMID: 6877778 // *Ophthalmology*. – 1983 May. – № 90 (5). – P. 458–474.

71. Heltai, K. Elevated antibody levels against *Chlamydia pneumoniae*, human HSP60 and mycobacterial HSP65 are independent risk factors in myocardial infarction and ischaemic heart disease / K. Heltai, Z. Kis, K. Burian [et al.]. – DOI 10.1016/j.atherosclerosis.003.12.026 // *Atherosclerosis*. – 2004. – № 27. – P. 339–346.

72. Hirano, Y. Multimodal Imaging of Microvascular Abnormalities in Retinal Vein Occlusion / Y. Hirano, N. Suzuki, T. Tomiyasu [et al.]. – DOI 10.3390/jcm10030405 // *Journal of clinical medicine*. – 2021. – № 10 (3). – P. 405.

73. Hooper, P. L. Is low-heat shock protein 70 a primary or a secondary event in the development of atherosclerosis? / P. L. Hooper, J. J. Hooper. – DOI 10.1161/01.HYP.0000118134.56524.b1. – PMID: 14757785 // *Hypertension*. – 2004 Apr. – № 43 (4). – P. e18–19.

74. Hou, A. Evaluation of global differential gene and protein expression in primary Pterygium: S100A8 and S100A9 as possible drivers of a signaling network / A. Hou, W. Lan, K. P. Law [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0097402 // *PloS one*. – 2014. – № 9 (5). – P. e97402.

75. Hu, C. Heat shock proteins: Biological functions, pathological roles, and therapeutic opportunities / C. Hu, J. Yang, Z. Qi [et al.]. – DOI 10.1002/mco2.161 // *Med. Comm.* – 2022. – № 3. – e161.

76. Joachim, S. C. Enhanced characterization of serum autoantibody reactivity following HSP 60 immunization in a rat model of experimental autoimmune glaucoma / S. C. Joachim, M. B. Wax, P. Seidel [et al.]. – DOI 10.3109/02713683.2010.495829 // *Current eye research*. – 2010. – № 10. – P. 900–908.

77. Joyce, B. T. miRNA-Processing Gene Methylation and Cancer Risk / B. T. Joyce, Y. Zheng, Z. Zhang [et al.]. – DOI 10.1158/1055-9965.EPI-17-0849. – PMID: 29475968. – PMCID: PMC5932226 // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 2018 May. – № 27 (5). – P. 550–557.

78. Kanski, J. J. C Kanski's Clinical Ophthalmology: A Systematic Approach / J. J. Kanski. – Philadelphia : Elsevier Saunders, 2016. – 928 p.

79. Kanski, J. J. Clinical Ophthalmology / J. J. Kanski. – Elsevier Urban&Partner, 2009. – P. 587–592.

80. Khayat, M. Ischemic retinal vein occlusion: characterizing the more severe spectrum of retinal vein occlusion / M. Khayat, M. Williams, N. Lois. – DOI 10.1016/j.survophthal.2018.04.005. – PMID: 29705175 // Surv. Ophthalmol. – 2018 Nov-Dec. – № 63 (6). – P. 816–850.

81. Kim, J. Retinal Vein Occlusion is Associated with Low Blood High-Density Lipoprotein Cholesterol: A Nationwide Cohort Study / J. Kim, D. H. Lim, K. Han [et al.]. – DOI 10.1016/j.ajo.2019.04.001 // American journal of ophthalmology. – 2019. – № 205. – P. 35–42.

82. Kim, J. W. S100A8 in Serum, Urine, and Saliva as a Potential Biomarker for Systemic Lupus Erythematosus / J. W. Kim, J. Y. Jung, S. W. Lee [et al.]. – DOI 10.3389/fimmu.2022.886209. – PMID: 35529863. – PMCID: PMC9073082 // Front Immunol. – 2022 Apr 22. – № 13. – P. 886209.

83. Kolar, P. Risk factors for central and branch retinal vein occlusion: a meta-analysis of published clinical data / P. Kolar. – DOI 10.1155/2014/724780 // Journal of Ophthalmology. – 2014. – P. 724–780.

84. Kovacs, B. MicroRNAs in early diabetic retinopathy in streptozotocin-induced diabetic rats / B. Kovacs, S. Lumayag, C. Cowan, S. Xu. – DOI: 10.1167/iovs.10-6879 // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2011. – № 52 (7). – P. 4402–4409.

85. Krishnan-Sivadoss, I. Heat shock protein 60 and cardiovascular diseases: An intricate love-hate story / I. Krishnan-Sivadoss, I. A. Mijares-Rojas, R. A. Villarreal-Leal [et al.]. – DOI 10.1002/med.21723. – PMID: 32808366. – PMCID: PMC9290735 // Med. Res. Rev. – 2021 Jan. – № 41 (1). – P. 29–71.

86. Laouri, M. The burden of disease of retinal vein occlusion: review of the literature / M. Laouri, E. Chen, Looman M. [et al.]. – DOI 10.1038/eye.2011.92 // Eye (Lond.). – 2011 Aug. – № 25 (8). – P. 981–988.

87. Leber, T. Diseases of the retina and optic nerves / T. Leber // Handbook of the entire ophthalmology / A. Graefe, T. Saemisch (eds.). – Published by Wilhelm Engelmann Leipzig, 1877. – 551 p.

88. Lee, N. H. Using the Thickness Map from Macular Ganglion Cell Analysis to Differentiate Retinal Vein Occlusion from Glaucoma / N. H. Lee, K. S. Park, H. M. Lee [et al.]. – DOI 10.3390/jcm9103294 // Journal of clinical medicine. – 2020. – № 9 (10). – P. 3294.

89. Li, C. S100A proteins in the pathogenesis of experimental corneal neovascularization / C. Li, F. Zhang, Y. Wang // Mol. Vis. – 2010. – № 16. – P. 2225–2235.

90. Li, E. H. Effects of miRNA-200b on the development of diabetic retinopathy by targeting VEGFA gene / E. H. Li, Q. Z. Huang, G. C. Li [et al.]. – DOI 10.1042/BSR20160572 // Bioscience reports. – 2017. – № 2. – BSR20160572.

91. Li, X. MicroRNA-21 and hypertension / X. Li, Y. Wei, Z. Wang. – DOI 10.1038/s41440-018-0071-z // Hypertension research. – 2018. – № 9. – P. 649–661.

92. Li, Y. Polymorphisms of heat shock protein 70 genes (HSPA1A, HSPA1B and HSPA1L) and susceptibility of noise-induced hearing loss in a Chinese population: A case-control study / Y. Li, S. Yu, G. Gu [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0171722 // PLoS One. – 2017. – № 12 (2). – P. e0171722.

93. Liebreich, R. Apoplexia retinae / R. Liebreich // Archives of Ophthalmology. – 1855. – Vol. 1. – P. 346–351.

94. Liu, H. Y. miR-21 regulates the proliferation and apoptosis of ovarian cancer cells through PTEN/PI3K/AKT / H. Y. Liu, Y. Y. Zhang, B. L. Zhu [et al.]. – DOI: 10.26355/eurrev_201905_17917 // Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. – 2019. – № 23 (10). – P. 4149–4155.

95. Lukiw, W. J. Common micro RNAs (miRNAs) target complement factor H (CFH) regulation in Alzheimer's disease (AD) and in age-related macular degeneration (AMD) / W. J. Lukiw, B. Surjyadipta, P. Dua, P. N. Alexandrov // Int. J. Biochem. Mol. Biol. – 2012. – № 3 (1). – P. 105–116.

96. Marcinkowska, A. Platelet and Thrombophilia-Related Risk Factors of Retinal Vein Occlusion / A. Marcinkowska, S. Cisiecki, M. Rozalski. – DOI 10.3390/jcm10143080 // *Journal of clinical medicine*. – 2021. – № 10 (14). – P. 3080.

97. Mardan-Nik, M. Association of heat shock protein70-2 (HSP70-2) gene polymorphism with obesity / M. Mardan-Nik, A. Pasdar, K. Jamialahmadi [et al.]. – DOI 10.3109/03014460.2015.1119309 // *Ann. Hum. Biol.* – 2016. – № 43 (6). – P. 542–546.

98. Mazzeo A., Beltramo E., Lopatina T. [et al.] Molecular and functional characterization of circulating extracellular vesicles from diabetic patients with and without retinopathy and healthy subjects / A. Mazzeo, E. Beltramo, T. Lopatina [et al.]. – DOI: 10.1016/j.exer.2018.07.003 // *Exp. Eye Res.* – 2018. – № 176. – P. 69–77.

99. Miller, D. J. Heat Shock Proteins Regulatory Role in Neurodevelopment / D. J. Miller, P. E. Fort. – DOI 10.3389/fnins.2018.00821. – PMID: 30483047. – PMCID: PMC6244093. // *Front Neurosci.* – 2018 Nov 12. – № 12. – P. 821.

100. Navickas, R. Identifying circulating microRNAs as biomarkers of cardiovascular disease: a systematic review / R. Navickas, D. Gal, A. Laucevičius [et al.]. – DOI 10.1093/cvr/cvw174 // *Cardiovascular research*. – 2016. – № 4. – P. 322–337.

101. Nicholson, L. Retinal Nonperfusion in the Posterior Pole Is Associated With Increased Risk of Neovascularization in Central Retinal Vein Occlusion / L. Nicholson, C. Vazquez-Alfageme, N. V. Patrao [et al.]. – DOI 10.1016/j.ajo.2017.07.015. – PMID: 28739419 // *Am. J. Ophthalmol.* – 2017 Oct. – № 182. – P. 118–125.

102. Nicholson, L. Retinal vein occlusion (RVO) guideline: executive summary / L. Nicholson, Talks S. J., Amoaku W. [et al.]. – DOI 10.1038/s41433-022-02007-4. – PMID: 35301458. – PMCID: PMC9046155 // *Eye (Lond.)*. – 2022 May. – № 36 (5). – P. 909–912.

103. Oh, T. R. Hypertension as a risk factor for retinal vein occlusion in menopausal women: A nationwide Korean population-based study / T. R. Oh, K. D. Han, H. Choi S. [et al.] – DOI 10.1097/MD.00000000000027628 // *Medicine*. – 2021. – № 100 (43). – P. e27628.

104. Ometto, F. Calprotectin in rheumatic diseases / F. Ometto, L.9 Friso, D. Astorri [et al.]. – DOI 10.1177/1535370216681551. – PMID: 27895095. – PMCID: PMC5407536 // *Exp. Biol. Med.* (Maywood). – 2017 Apr. – № 242 (8). – P. 859–873.

105. Oztas, Z. Branch retinal vein occlusion: the importance of the topographical distribution of retinal vessels among risk factors / Z. Oztas, C. Akkin, S. Nalcaci [et al.]. – DOI 10.1038/eye.2016.318. – PMID: 28085135. – PMCID: PMC5437329 // *Eye* (Lond.). – 2017 May. – № 31 (5). – P. 726–731.

106. Paciullo, F. Role of Increased Lipoprotein (a) in Retinal Vein Occlusion: A Systematic Review and Meta-analysis / F. Paciullo, D. Giannandrea, G. Virgili [et al.]. – DOI 10.1055/s-0041-1732803 // *TH open : companion journal to thrombosis and haemostasis*. – 2021. – № 5(3). – P. e295–e302.

107. Pagenstecher, H. Contributions to the teaching of hemorrhagic glaucoma / H. Pagenstecher // *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. – 1871. – Vol. 17. – P. 98–130.

108. Pilakka-Kanthikeel, S. Sterile alpha motif and histidine/aspartic acid domain-containing protein 1 (SAMHD1)-facilitated HIV restriction in astrocytes is regulated by miRNA-181a / S. Pilakka-Kanthikeel, A. Raymond, V. S. Atluri [et al.]. – DOI 10.1186/s12974-015-0285-9 // *Journal of neuroinflammation*. – 2015. – № 12. – P. 66.

109. Pogribny, I. P. MicroRNAs as biomarkers for clinical studies / I. P. Pogribny. – DOI 10.1177/1535370217731291 // *Experimental biology and medicine*. – 2018. – № 3. – P. 283–290.

110. Ponto, K. A. Hypertension and multiple cardiovascular risk factors increase the risk for retinal vein occlusions: results from the Gutenberg Retinal Vein Occlusion Study / K. A. Ponto, I. Scharrer, H. Binder [et al.]. – DOI 10.1097/HJH.0000000000002057 // *Journal of hypertension*. – 2019. – № 7. – P. 1372–1383.

111. Ponto, K. A. Prevalence and risk factors of retinal vein occlusion: the Gutenberg Health Study / K. A. Ponto, H. Elbaz, T. Peto [et al.]. – DOI 10.1111/jth.12982 // *Journal of thrombosis and haemostasis*. – 2015. – № 7. – P. 1254–1263.

112. Qazi, Y. Mediators of ocular angiogenesis / Y. Qazi, S. Maddula, B. K. Ambati. – DOI 10.1007/s12041-009-0068-0 // *J. Genet.* – 2009. – № 88 (4). – P. 495–515.

113. Qin, L. L. MicroRNA-126: a promising novel biomarker in peripheral blood for diabetic retinopathy / L. L. Qin, M. X. An, Y. L. Liu [et al.]. – DOI 10.18240/ijo.2017.04.05 // International journal of ophthalmology. – 2017. – № 4. – P. 530–534.

114. Qing, S. Serum miRNA biomarkers serve as a fingerprint for proliferative diabetic retinopathy / S. Qing, S. Yuan, C. Yun [et al.]. – DOI 10.1159/000366374 // Cellular physiology and biochemistry. – 2014. – № 5. – P. 1733–1740.

115. Rajeswaren, V. Small Heat Shock Proteins in Retinal Diseases / V. Rajeswaren, J. O. Wong, D. Yabroudi [et al.]. – DOI 10.3389/fmolb.2022.860375 // Frontiers in molecular biosciences. – 2022. – № 9. – P. 860375.

116. Rezk, N. A. Role of MicroRNA 126 in screening, diagnosis, and prognosis of diabetic patients in Egypt / N. A. Rezk, N. A. Sabbah, M. S. Saad. – DOI 10.1002/iub.1502 // IUBMB Life. – 2016. – № 6. – P. 452–458.

117. Riau, A. K. Calcium-binding S100 protein expression in pterygium / A. K. Riau, T. T. Wong, R. W. Beuerman [et al.] // Molecular vision. – 2009. – № 15. – P. 335–342.

118. Rim, T. H. Retinal vein occlusion and the risk of stroke development: a 9-year nationwide population-based study / T. H. Rim, D. W. Kim, J. S. Han [et al.]. – DOI 10.1016/j.ophtha.2015.01.020 // Ophthalmology. – 2015. – № 6. – P. 1187–1194.

119. Risk factors for central retinal vein occlusion / The Eye Disease Case-Control Study Group. – PMID: 8619763 / Arch. Ophthalmol. – 1996 May. – № 114 (5). – P. 545–554.

120. Rodriguez-Iturbe, B. The role of autoimmune reactivity induced by heat shock protein 70 in the pathogenesis of essential hypertension / B. Rodriguez-Iturbe, M. A. Lanaspa, R. J. Johnson. – DOI 10.1111/bph.14334. – PMID: 29679484. – PMCID: PMC6534783. // Br. J. Pharmacol. – 2019 Jun. – № 176 (12). – P. 1829–1838.

121. Rogers, S. International Eye Disease Consortium. The prevalence of retinal vein occlusion: pooled data from population studies from the United States, Europe, Asia, and Australia / S. Rogers, R. L. McIntosh, N. Cheung [et al.]. – DOI 10.1016/j.ophtha.2009.07.017 // Ophthalmology. – 2010. – № 2. – P. 313–319.

122. Romano, G. L. Retinal and circulating miRNAs in age-related macular degeneration: an in vivo animal and human study / G. L. Romano, C. D. M. Platania, F. Drago [et al.]. – DOI 10.3389/fphar.2017.00168 // *Frontiers in pharmacology*. – 2017. – P. 168.

123. Sabatel, C. MicroRNA-21 exhibits antiangiogenic function by targeting RhoB expression in endothelial cells / C. Sabatel, L. Malvaux, N. Bovy [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0016979 // *PLoS One*. – 2011. – № 2. – P. e16979.

124. Shao, A. The role and therapeutic potential of heat shock proteins in haemorrhagic stroke / A. Shao, Y. Zhou, Y. Yao [et al.]. – DOI 10.1111/jcmm.14479 // *Journal of cellular and molecular medicine*. – 2019. – № 9. – P. 5846–5858.

125. Shirsath, K. HSP60 knockdown exerts differential response in endothelial cells and monocyte derived macrophages during atherogenic transformation / K. Shirsath, A. Joshi, A. Vohra, R. Devkar. – DOI 10.1038/s41598-020-79927-2 // *Scientific reports*. – 2021. – № 11 (1). – P. 1086.

126. Singh, P. Multifunctional Role of S100 Protein Family in the Immune System: An Update / P. Singh, S. A. Ali. – DOI 10.3390/cells11152274 // *Cells*. – 2022. – № 11 (15). – P. 2274.

127. Song, P. Global epidemiology of retinal vein occlusion: a systematic review and meta-analysis of prevalence, incidence, and risk factors / P. Song, Y. Xu, M. Zha [et al.]. – DOI 10.7189/jogh.09.010427 // *Journal of global health*. – 2019. – № 1. – P. 010427.

128. Spalton, D. J. Atlas of Clinical Ophthalmology / D. J. Spalton, A. H. Roger, A. H. Paul [et al.]. – Elsevier Mosby, 2005. – P. 453–457.

129. Tamhane, M. Review of Biomarkers in Ocular Matrices: Challenges and Opportunities / M. Tamhane, S. Cabrera-Ghayouri, G. Abelian [et al.]. – DOI 10.1007/s11095-019-2569-8 // *Pharmaceutical research*. – 2019. – № 3. – P. 40.

130. Tang, Y. Review: The Development of Risk Factors and Cytokines in Retinal Vein Occlusion / Y. Tang, Y. Cheng, S. Wang [et al.]. – DOI 10.3389/fmed.2022.910600. – PMID: 35783660. – PMCID: PMC9240302 // *Front Med. (Lausanne)*. – 2022 Jun 15. – № 9. – P. 910600.

131. Tobari, I. Central retinal vein occlusion (CRVO), visual disorder in patients of middle and advanced age / I. Tobari // *JAMA*. – 2001. – Vol. 44, № 6. – P. 268–273.
132. Trovato Battagliola, E. Risk factors in central retinal vein occlusion: A multi-center case-control study conducted on the Italian population: Demographic, environmental, systemic, and ocular factors that increase the risk for major thrombotic events in the retinal venous system / E. Trovato Battagliola, F. Pacella, M. Malvasi [et al.]. – DOI 10.1177/11206721211064469 // *European journal of ophthalmology*. – 2022. – № 2 (5). – P. 2801–2809.
133. Tsai, T. Role of Heat Shock Proteins in Glaucoma / T. Tsai, P. Grotegut, S. Reinehr [et al.]. – DOI 10.3390/ijms20205160 // *International journal of molecular sciences*. – 2019. – № 20. – P. 5160.
134. Varma, D. D. A review of central retinal artery occlusion: clinical presentation and management / D. D. Varma, S. Cugati, A. W. Lee [et al.]. – DOI 10.1038/eye.2013.25 // *Eye*. – 2013. – № 6. – P. 688–697.
135. Vogl, T. S100a12 is expressed exclusively by granulocytes and acts independently from mrp8 and mrp14 / T. Vogl, C. Propper, M. Hartmann [et al.]. – DOI 10.1074/jbc.274.36.25291 // *The Journal of biological chemistry*. – 1999. – № 36. – P. 25291–25296.
136. Wang, B. A Review of Intraocular Biomolecules in Retinal Vein Occlusion: Toward Potential Biomarkers for Companion Diagnostics / B. Wang, X. Zhang, H. Chen [et al.]. – DOI 10.3389/fphar.2022.859951. – PMID: 35559255. – PMCID: PMC9086509 // *Front Pharmacol*. – 2022 Apr 26. – № 13. – P. 859951.
137. Wang, L. miR-126 Regulation of Angiogenesis in Age-Related Macular Degeneration in CNV Mouse Model / L. Wang, A. Y. Lee, J. P. Wigg [et al.] – DOI 10.3390/ijms17060895 // *Int. J. Mol. Sci*. – 2016. – № 17 (6). – P. 895.
138. Wang, Y. Diabetes mellitus as a risk factor for retinal vein occlusion: A meta-analysis / Y. Wang, S. Wu, F. Wen, Q. Cao. – DOI 10.1097/MD.00000000000019319 // *Medicine*. – 2020. – № 99 (9). – P. e19319.
139. Wang, Z. W. CKS2 and S100A12: Two Novel Diagnostic Biomarkers for Rheumatoid Arthritis / Z. W. Wang, L. J. Zhang, Y. Zhuang [et al.] – DOI 10.1155/2022/2431976.

– PMID: 35789606. – PMCID: PMC9250429 // Dis. Markers. – 2022 Jun 25. – № 2022. – P. 2431976.

140. Wick, C. Tolerization against atherosclerosis using heat shock protein 60 / C. Wick. – DOI 10.1007/s12192-015-0659-z // Cell Stress Chaperones. – 2016. – № 2. – P. 201–211.

141. Wick, G. Atherosclerosis as an autoimmune disease: an update / G. Wick, H. Perschinka, G. Millonig. – DOI 10.1016/s1471-4906(01)02089-0 // Trends Immunology. – 2001. – № 12. – P. 665–669.

142. Wittström E. Central Retinal Vein Occlusion in Younger Swedish Adults: Case Reports and Review of the Literature / E. Wittström. – DOI 10.2174/1874364101711010089 // Open Ophthalmol. J. – 2017 May 22. – № 11. – P. 89–102.

143. Yan, L. Single and Compound Knock-outs of MicroRNA (miRNA)-155 and Its Angiogenic Gene Target CCN1 in Mice Alter Vascular and Neovascular Growth in the Retina via Resident Microglia / L. Yan, S. Lee, D. R. Lazzaro [et al.] – DOI 10.1074/jbc.M115.646950 // The Journal of biological chemistry. – 2015. – № 38. – P. 23264–23281.

144. Yang, T. T. Regulatory T cells in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus retinopathy by miR-155 / T. T. Yang, S. J. Song, H. B. Xue [et al.] // Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. – 2015. – № 19 (11). – P. 2010–2015.

145. Yin, X. Association of glaucoma with risk of retinal vein occlusion: A meta-analysis / X. Yin, J. Li, B. Zhang, P. Lu. – DOI 10.1111/aos.14141 // Acta Ophthalmol. – 2019 Nov. – № 97 (7). – P. 652–659.

146. Yong, H. The correlation between cytokine levels in the aqueous humor and the prognostic value of anti-vascular endothelial growth factor therapy for treating macular edema resulting from retinal vein occlusion / H. Yong, H. Qi, H. Yan [et al.]. – DOI 10.1007/s00417-021-05211-2 // Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology. – 2021. – № 11. – P. 3243–3250.

147. Yuan, J. Mir-21 Promotes Cardiac Fibrosis After Myocardial Infarction Via Targeting Smad7 / J. Yuan, H. Chen, D. Ge [et al.]. – DOI 10.1159/000479995 // Cellular Physiology and Biochemistry. – 2017. – № 6. – P. 2207–2219.

148. Yuan, X. Quantitative proteomics: comparison of the macular Bruch membrane/choroid complex from age-related macular degeneration and normal eyes / X. Yuan [et al.] // *Mol. Cell. Proteomics*. – 2010. – № 9. – P. 1031–1046.

149. Zhang, Y. MicroRNA-126 and VEGF enhance the function of endothelial progenitor cells in acute myocardial infarction / Y. Zhang, Y. Xu, K. Zhou [et al.]. – DOI 10.3892/etm.2021.11065. – PMID: 35069823. – PMCID: PMC8756429 // *Exp. Ther. Med.* – 2022 Feb. – № 23 (2). – P. 142.

150. Zhang, Y. MiR-208b/miR-21 Promotes the Progression of Cardiac Fibrosis Through the Activation of the TGF- β 1/Smad-3 Signaling Pathway: An in vitro and in vivo Study / Y. Zhang, B. Yuan, Y. Xu [et al.]. – DOI 10.3389/fcvm.2022.924629 // *Frontiers in cardiovascular medicine*. – 2022. – № 9. – P. 924629.

151. Zhao, F. Expression, regulation and function of miR-126 in the mouse choroid vasculature / F. Zhao, C. Anderson, S. Karnes [et al.]. – DOI 10.1016/j.exer.2018.02.026 // *Experimental Eye Research* – 2018. – № 170. – P. 169–176.