

КОМОВА ОЛЬГА ЮРЬЕВНА

НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ РЕГУЛЯЦИИ АНГИОГЕНЕЗА ПРИ РЕТИНАЛЬНОЙ  
НЕОВАСКУЛЯРНОЙ ПАТОЛОГИИ  
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

3.3.3. Патологическая физиология

3.1.5. Офтальмология

**Автореферат**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

**Москва – 2022**

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук, профессор **Гуревич Константин Георгиевич**  
доктор медицинских наук, профессор **Гаврилова Наталья Александровна**

**Официальные оппоненты:**

**Власов Тимур Дмитриевич:** доктор медицинских наук, профессор, декан лечебного факультета и заведующий кафедрой патофизиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Балашова Лариса Маратовна:** доктор медицинских наук, генеральный директор Некоммерческого партнерства «Международный научно-практический центр пролиферации тканей»

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится « 22 » сентября 2022 г. в 12.00 часов на заседании диссертационного совета 24.1.180.01, созданного на базе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», по адресу: 125315, г. Москва, ул. Балтийская, д. 8.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «НИИОПП», а также на сайте <http://www.niiopp.ru/>.

Автореферат разослан « 20 » августа 2022 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор биологических наук



Н.Б. Панкова

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ.

### Актуальность исследования и степень ее разработанности.

Неоваскулярная патология сетчатки (диабетическая ретинопатия, ретинопатия недоношенных (РН), ретинальная венозная окклюзия, возрастная макулярная дегенерация (ВМД) и др.) является одной из наиболее частых причин слепоты и слабовидения в мире.

В России по данным Госрегистра на 01 января 2021 года зарегистрировано 4 799 млн. человек с сахарным диабетом (СД), распространенность диабетической ретинопатии составляет 31,7 и 13,5% у пациентов с СД 1-го и 2-го типа, соответственно (Дедов И.И. с соавт., 2021). Окклюзия вен сетчатки стоит на втором месте по распространенности сосудистых заболеваний глаз после диабетической ретинопатии, и на пятом месте среди причин, вызывающих монокулярную слепоту (Бойко Э.В., 2013; Кабардина Е.В., 2019). Ежегодно в мире у 28 300–45 600 новорожденных диагностируются необратимые нарушения зрения вследствие ретинопатии недоношенных (Катаргина Л.А., 2020). В России ВМД страдают от 14 до 46% лиц старше 65 лет, в ближайшие годы прогнозируется дальнейшее увеличение заболеваемости (Коняев Д. А., 2020). В связи с этим, изучение механизмов ретинального неоваскулогенеза является актуальной задачей патологической физиологии и офтальмологии.

Одним из ключевых механизмов формирования ретинальной неоваскуляризации является VEGF-зависимый механизм ангиогенеза, и в настоящее время при данной патологии достаточно широко используется анти-VEGF терапия. Однако, при ее проведении не всегда может быть достигнут максимально возможный положительный клинический результат, а в ряде случаев наблюдается рефрактерность к проводимой терапии и связано это, вероятно, с тем, что процесс формирования ретинальной неоваскуляризации является многофакторным (Fernández-Robredo P. et al, 2014; Daniel E. et al, 2014; Lally DR et, 2012; Kim M et al, 2016; Amoaku W.M. et al., 2015). В последние годы в развитии ретиноваскулярной патологии выявлена роль некоторых факторов, обладающих, как про-, так и антиангиогенными свойствами, и с целью повышения эффективности антиангиогенной терапии проводится поиск новых возможностей регуляции ретинального неоваскулогенеза.

В регуляции ретинальной неоваскуляризации безусловный интерес может представлять TNF- $\alpha$ -блокада. TNF- $\alpha$  является членом большого суперсемейства цитокинов. TNF- $\alpha$  активирует пролиферацию в эндотелиальных клетках сосудов сетчатки и участвует в формировании нейродегенеративных процессов сетчатки и зрительного нерва, вызывает воспаление, активирует экспрессию адгезивных молекул, усиливает пролиферацию, индуцирует апоптоз в эндотелиальных клетках сосудов сетчатки (Bodmer J.L. et al., 2002; Mathew S.J et al., 2009; Ahmed F. et al., 2004). Однако на сегодняшний день TNF- $\alpha$ -индуцированный механизм ретинального неоваскулогенеза остается до конца не изученным. Известно, что клеточные эффекты TNF- $\alpha$  могут зависеть от типа рецепторов, типа и функционального состояния клеток, от концентрации и продолжительности воздействия TNF-

$\alpha$  и от одновременно оказываемого на клетку воздействия цитокинов, даже от их временной последовательности воздействия (Giraud E. et al., 1998). Понимание молекулярных и клеточных TNF-опосредованных эффектов в сетчатке представляет интерес в связи с возможностью развития новых эффективных терапевтических направлений при различной патологии сетчатки.

Еще одной из возможных терапевтических мишеней при патологии сетчатки, связанной с формированием неоваскуляризации, могут являться PPARs – ядерные рецепторы активируемые пероксисомным пролифератором, которые экспрессируются во всех слоях сетчатки (Herzlich A.A. et al., 2009). В клетках пигментного эпителия выявлены представители всех типов PPARs – PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta/61$ , PPAR $\beta/62$ , PPAR $\gamma1$  и PPAR $\gamma2$  (Dwyer M.A. et al., 2011). В эндотелиальных клетках PPARs регулируют процессы клеточной пролиферации, ангиогенеза, адгезии, агрегации и воспаления. PPAR $\alpha$  и PPAR $\gamma$  обладают преимущественно антиангиогенными, PPAR  $\beta/\delta$  – проангиогенными свойствами (Bishop-Bailey D. et al., 2011). Роль PPAR рецепторов в механизме регуляции ретинального неоваскуляризации на сегодняшний день также не установлена.

К основным и наиболее эффективным методам лечения целого ряда патологии глазного дна, таких как, ДР, РВО, ВМД и др. относятся лазерные методы лечения (Дога А.В. с соавт., 2013; Качалина Г.Ф. с соавт., 2013). Известно, что важную роль в достижении биологических эффектов лазерного воздействия играет модуляция ретинальной экспрессии генов (Wilson A.S., 2003; Martin G., 2018). Проведение исследований, направленных на изучение молекулярных механизмов воздействия на сетчатку лазерного излучения с длиной волны 577 нм с использованием microarray transcription analysis позволит идентифицировать ключевые регуляторные факторы и/или реакции, отвечающие за клинический эффект, расширить показания к его применению, определить наиболее оптимальные стратегии и повысить эффективность лазерного лечения целого ряда патологий глазного дна.

Таким образом, на сегодняшний день остается актуальным поиск новых подходов для блокирования нескольких ключевых регуляторов ретинального ангиогенеза.

### **Цель работы**

Изучить возможности регуляции ангиогенеза при ретинальной неоваскулярной патологии.

### **Задачи:**

1. Определить роль TNF- $\alpha$  в процессе формирования ретинальной неоваскуляризации у животных с кислород-индуцированной ретинопатией и определить механизм реализации его действия.
2. Провести сравнительный анализ эффективности TNF- $\alpha$ , VEGF и TNF- $\alpha$ -VEGF блокады в регуляции неоваскуляризации у животных с кислород-индуцированной ретинопатией.

3. Оценить роль PPAR рецепторов в механизме регуляции ретинального неоангиогенеза и эффективность применения PPAR $\alpha$  и PPAR $\gamma$  агонистов у животных с кислород-индуцированной ретинопатией.
4. Провести анализ VEGF-индуцированных изменений ретинальной экспрессии генов ангиогенеза в эксперименте.
5. Оценить возможность и эффективность коррекции VEGF-индуцированных изменений ретинальной экспрессии генов ангиогенеза в результате применения лазерного воздействия с длиной волны 577 нм в микроимпульсном режиме.
6. Оценить возможность и эффективность коррекции VEGF-индуцированных изменений ретинальной экспрессии генов ангиогенеза в результате применения лазерного воздействия с длиной волны 577 нм в непрерывном режиме.

#### **Научная новизна:**

1. На экспериментальной модели кислород-индуцированной ретинопатии установлено, что TNF- $\alpha$  является индуктором VEGF-зависимого процесса формирования ретинальной неоваскуляризации – чем выше уровень содержания TNF- $\alpha$  в ткани сетчатки, тем выше уровень VEGF и больше площадь ретинальной неоваскуляризации.
2. Определена динамика изменений уровня содержания TNF- $\alpha$  и VEGF в процессе формирования патологии при кислород-индуцированной ретинопатии и выявлены сроки их пиковых значений.
3. Установлена эффективность применения ингибитора TNF- $\alpha$  при кислород-индуцированной ретинопатии и выявлено наличие оптимальных сроков его использования.
4. Установлено, что комбинированное применение ингибитора TNF- $\alpha$  с анти-VEGF-препаратом или с фактором пигментного эпителия (PEDF) у животных с кислород-индуцированной ретинопатией позволяет более эффективно снизить уровень содержания VEGF в ткани сетчатки и предотвратить формирование неоваскуляризации.
5. Разработана фенофибратная композиция. Патент RU 2652342
6. Установлена эффективность применения агонистов PPAR рецепторов при кислород-индуцированной ретинопатии и, таким образом, доказано, что в результате активации PPAR $\alpha$  рецепторов блокируется ретинальная неоваскуляризация.
7. Выявлены изменения ретинальной экспрессии генов ангиогенеза при интравитреальном введении 50 нг/мл рекомбинантного VEGF165.
8. Изучены механизмы регуляции ретинальной экспрессии генов ангиогенеза в результате воздействия на сетчатку лазерного излучения с длиной волны 577 нм в микроимпульсном и непрерывном режимах при интравитреальном введении 50 нг/мл рекомбинантного VEGF165.

### **Теоретическая и практическая значимость.**

1. Дополнены имеющиеся представления о механизме формирования ретинального неоангиогенеза – установлено, что TNF- $\alpha$  является прямым, и VEGF – опосредованным индуктором неоангиогенеза.
2. Установлено наличие целесообразности применения при ретинальной неоваскулярной патологии комбинированной TNF- $\alpha$ -VEGF блокады с использованием ингибиторов в определенные установленные сроки.
3. Установлено наличие целесообразности применения при ретинальной неоваскулярной патологии агонистов PPAR рецепторов.
4. С целью увеличения экспрессии генов с антиангиогенными свойствами и снижения экспрессии генов с проангиогенными свойствами при ретинальной неоваскулярной патологии установлено наличие целесообразности применения лазерного излучения с длиной волны 577 нм в микроимпульсном и непрерывном режимах.

### **Методология и методы исследования**

Работа имеет экспериментальный характер. Для решения поставленных задач был проведен иммуноферментный анализ с целью определения уровней содержания VEGF, ICAM1, TNF- $\alpha$  в гомогенатах сетчатки; Вестерн-блот анализ для определения содержания белков клеточных контактов – окклюдина, клаудина-1, -2 и -5; приготовление тотальных препаратов сетчатки с последующим их иммуногистохимическим окрашиванием и компьютерным анализом цифровых изображений сосудов сетчатки; транскрипционный анализ образцов тканей (Microarray transcription analysis). Объект исследования – крысы линии albino Wistar с моделью кислород-индуцированной ретинопатии, мыши линии C57BL/6J с моделью VEGF-индуцированной ретинопатии; предмет исследования – роль TNF- $\alpha$ , PPAR рецепторов в процессе формирования ретинальной неоваскуляризации; возможность и эффективность коррекции VEGF-индуцированных изменений ретинальной экспрессии генов. Достоверность полученных данных подтверждена стандартными методами статистического анализа.

### **Основные положения, выносимые на защиту.**

1. TNF- $\alpha$  является индуктором VEGF-зависимого процесса формирования ретинальной неоваскуляризации при кислород-индуцированной ретинопатии. Комбинированное применение ингибиторов TNF- $\alpha$  с анти-VEGF препаратами или с PEDF в сроки до максимальной ретинальной экспрессии TNF- $\alpha$  и VEGF, соответственно, более эффективно, чем изолированная VEGF-блокада.

2. Применение PPAR $\alpha$  и PPAR $\gamma$  агонистов при кислород-индуцированной ретинопатии позволяет эффективно снизить уровень содержания TNF- $\alpha$  и VEGF в ретиальной ткани и предотвратить формирование ретиальной неоваскуляризации.
3. При лазерном воздействии с длиной волны 577 нм в микроимпульсном режиме осуществляется коррекция развивающихся при интравитреальном введении VEGF165 изменений ретиальной экспрессии генов ангиогенеза – снижается экспрессия генов с проангиогенными свойствами, увеличивается экспрессия генов с антиангиогенными свойствами и нормализуется экспрессия генов ингибиторов неоваскуляризации.
4. При лазерном воздействии с длиной волны 577 нм в непрерывном режиме осуществляется разнонаправленная регуляция развивающихся при интравитреальном введении VEGF165 изменений ретиальной экспрессии генов ангиогенеза – экспрессия генов с анти- и проангиогенными свойствами, как увеличивается, так и снижается, что следует учитывать при использовании данного вида воздействия.

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

Достоверность полученных результатов подтверждается достаточным объемом экспериментального материала, использованием методов исследования, адекватных поставленным задачам и применением современных методов статистического анализа.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены в рамках XV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Федоровские чтения - 2018» 21-22 июня 2018 г., г. Москва; IX Всероссийской научной конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы офтальмологии» 18 июня 2014 г., Москва.

#### **Личный вклад автора в исследование**

Автор принимал непосредственное участие в разработке дизайна исследования, анализе отечественных и зарубежных источников литературы, научного материала, в статистическом анализе результатов исследования, в написании статей по теме исследования, а также написал диссертацию и автореферат.

Автором лично проведено создание модели кислород-индуцированной ретинопатии у крыс, инстилляций и интравитреальное введение препаратов, энуклеация, приготовление тотальных препаратов сетчатки, проведение компьютерного анализа цифровых изображений сетчатки (у всех экспериментальных животных).

#### **Специальность, которой соответствует диссертация**

Областью исследования представленной научной работы является изучение механизмов развития и исходов патологических процессов. Указанное соответствует специальности 3.3.3. Патологическая физиология. Исследование включает изучение патологии глаза, разработку

методов лечения глазных заболеваний, изучение влияния консервативной терапии на орган зрения, совершенствование методик, что соответствует специальности 3.1.5. Офтальмология.

### **Внедрение в практику**

Результаты диссертационной работы используются в лекционных курсах для клинических ординаторов, аспирантов кафедры глазных болезней лечебного факультета и для студентов, аспирантов кафедры патологической физиологии лечебного факультета ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России.

### **Публикации:**

По теме диссертации опубликовано 8 работ, из них 5 - в рецензируемых научных изданиях и приравненных к ним публикациях. Получен патент на изобретение РФ.

### **Структура и объем диссертации.**

Текст диссертации изложен на 130 страницах, содержит 12 таблиц и 7 рисунков. Работа состоит из введения, обзора литературы, 4 глав, включающих материалы и методы исследования, результаты исследования, а также из заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и терминов, списка литературы. Список литературы включает 310 источников, из которых 45 отечественных и 265 иностранных.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования.**

Исследование выполнено в ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России. Утверждено Межвузовским Комитетом по этике (№ 07-21 от 15 июля 2021 года).

Работа состояла из трех экспериментальных разделов.

Первый раздел – Изучение роли TNF- $\alpha$  в процессе формирования ретиальной неоваскуляризации у животных с кислород-индуцированной ретинопатией и механизма реализации его действия. Оценка эффективности TNF- $\alpha$ , VEGF и TNF- $\alpha$ -VEGF блокады в регуляции неоангиогенеза у животных с кислород-индуцированной ретинопатией.

Второй раздел – Роль PPAR рецепторов в механизме регуляции ретиального неоангиогенеза и эффективность применения PPAR $\alpha$  и PPAR $\gamma$  агонистов у животных с кислород-индуцированной ретинопатией.

Третий раздел – Возможность и эффективность коррекции VEGF - индуцированных изменений ретиальной экспрессии генов ангиогенеза в результате применения лазерного воздействия с длиной волны 577 нм в микроимпульсном и непрерывном режимах.

Работа по первому и второму разделу была проведена на крысах линии albino Wistar, а исследования третьего раздела проводили на 4–5 недельных самцах мышей линии C57BL/6J.

Исследования проводились в соответствии с Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных (National Academy press, 1996).

### Дизайн исследования

1.	<b>Изучение роли TNF-<math>\alpha</math> в процессе формирования ретиальной неоваскуляризации (РНВ) у животных с кислород-индуцированной ретинопатией (КИР) и механизма реализации его действия.</b>		
	<i>Первый фрагмент</i> Сравнительный анализ уровня содержания TNF- $\alpha$ , VEGF и площади РНВ у крыс с КИР и интактных животных		
	Группы животных / количество	Методы и сроки исследования	
	интактные животные / 23 животные с моделью КИР / 23	Определение уровня содержания TNF- $\alpha$ и VEGF на 13-18 постнатальные сутки; Определение площади ретиальной неоваскуляризации - на 18 сутки	
	<i>Второй фрагмент.</i> Сравнительный анализ уровня содержания TNF- $\alpha$ , VEGF и площади РНВ у животных с КИР при и/в введении PEDF, Инфликсимаба, Ранибизумаба а также комбинированном применении Инфликсимаба с PEDF или с Ранибизумабом		
	Группы животных / количество	Методы и сроки исследования	
	• Инфликсимаб (ИФ) / 20 • PEDF / 20 • Ранибизумаб / 20 • ИФ + PEDF / 20 • ИФ + Ранибизумаб / 20	Определение уровня содержания TNF- $\alpha$ и VEGF на 13, 15 и 18 сутки Определение площади ретиальной неоваскуляризации на 18 сутки	
2.	<b>Роль PPAR рецепторов в механизме регуляции ретиального неоангиогенеза и эффективность применения PPAR<math>\alpha</math> и PPAR<math>\gamma</math> агонистов у животных с КИР</b>		
	Группы животных / количество	Сроки введения	Методы исследования и сроки их проведения
	Животные с КИР / 20		<u>15-18 сутки</u>
	Животные с КИР + инстилляцией фенофибратной композиции / 20	12-17 сутки	Определение уровней содержания TNF- $\alpha$ , ICAM1 и VEGF;
	Животные с КИР + и/в введение пиоглитазона / 20	12 сутки	<u>18 сутки</u> Определение содержания белков клеточных контактов;
	Животные с КИР + инстилляцией фенофибратной композиции +и/в введение пиоглитазона / 20	12-17 сутки 12 сутки	Компьютерный анализ цифровых изображений сосудов сетчатки
	Животные с КИР + и/в введение ранибизумаба на 12 сутки / 20	12 сутки	

	Интактные животные / 20		
3.	<b>Возможность и эффективность коррекции VEGF - индуцированных изменений ретиальной экспрессии генов ангиогенеза в результате применения лазерного воздействия (ЛВ) с длиной волны 577 нм в микроимпульсном и непрерывном режимах.</b>		
	Группы животных / количество	Транскрипционный анализ образцов тканей	
	Интравитреальное введение PBS / 15	ч/з 2 дня после и/в введения	
	Интравитреальное введение VEGF / 15		
	Интравитреальное введение VEGF + лазерное воздействие в микроимпульсном режиме ч/з день / 15	ч/з день после ЛВ	
	Интравитреальное введение VEGF + лазерное воздействие в непрерывном режиме ч/з день / 15		

Для создания модели кислород-индуцированной ретинопатии (КИР) с 7 по 12 день жизни новорожденные крысята вместе с кормящими самками находились в условиях гипероксии - в инкубаторе, подключенном к кислородному концентратору с непрерывной подачей 100% кислорода под давлением (насыщенность кислорода в инкубаторе составляла  $75\pm 5\%$ ). Для предотвращения формирования респираторного дистресс - синдрома у самок производилась их замена; с этой целью, для подкорма и проведения очистительных работ инкубатор ежедневно открывался не более чем на 5 минут. На 12 день жизни животные переводились в условия комнатного воздуха - условия относительной гипоксии с содержанием кислорода 21%.

Для проведения исследований животные были подвергнуты эвтаназии согласно требованиям «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей» (Страсбург, 1986). Энуклеация проводилась по стандартному протоколу.

После энуклеации глаза препарировали под бинокулярным микроскопом. Вскрытие глазного яблока проводилось по модифицированному протоколу Kretc et al., 2007. Извлеченную сетчатку фиксировали в 4% растворе параформальдегида в течение суток при температуре  $+4^{\circ}\text{C}$ . После тщательной промывки в фосфатном буфере сетчатку погружали в раствор биотинилированного изолектина B4 *Griffonia simplicifolia* (Vector Laboratories США) в разведении 1:100 в физиологическом растворе с фосфатным буфером (PBS) pH 7,2-7,4 в течение 12 часов при  $+4^{\circ}\text{C}$ . В дальнейшем сетчатку погружали в раствор стрептавидина, конъюгированного с флуоресцентными красителями Cy3 или FITC (Jackson ImmunoResearch, Великобритания) на 1 час при комнатной температуре для визуализации сосудистой сети.

После трехкратной промывки в фосфатном буфере, сетчатку помещали на предметное стекло, покрывали глицерином и покровным стеклом.

*Компьютерный анализ цифровых изображений сосудов сетчатки*, полученных с помощью инвертированного микроскопа Olympus KX-100 с цифровой фотокамерой Olympus DP72 и объективами 10x, 20x, 40x в свете флуоресценции Cy3 и FITC производили с помощью автоматизированного программного обеспечения SWIFT\_NV. Была проведена количественная оценка средней площади васкуляризации в пределах поверхностного ретинального слоя.

*Определение уровней содержания VEGF, TNF- $\alpha$  и ICAM1* в ткани сетчатки проводилось иммуноферментным методом с использованием наборов Rat VEGF DuoSet ELISA kit и Rat TNF-alpha ELISA kit, Rat ICAM1 ELISA kit фирмы R&D Systems, Inc., USA, соответственно.

Для *определения содержания белков клеточных контактов* – окклюдина, клаудина -1, -2 и -5 проводили Вестерн-блот анализ с использованием крысиных антител (Zymed Laboratories, США) к белкам плотных контактов, клаудину - 5 (1:5000), окклюдину и клаудину-1 (1:2000) и клаудину-2 (1:1000). Денситометрический анализ Вестерн- блот сигналов проводили с использованием программного обеспечения ImageJ.

*Фенофибратную композицию разрабатывали* совместно с НИИ Экспериментальной медицины ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» МЗ РФ. Такая форма препарата безопасна для роговицы и сетчатки, а также создает более высокую концентрацию в сетчатке и стекловидном теле, чем при системном применении. Инстилляцию производили 4 раза в день в течение 6 дней (с 12 по 17 день жизни животного), в контрольной группе закапывали аналогичную по составу композицию без фенофибрата. Режим закапывания был определен по данным Lu B. с соавт. - максимальная концентрация фенофибровой кислоты - активного метаболита фенофибрата в сетчатке авторами была зарегистрирована в интервале 4–6 часов после закапывания, через 12 часов ее концентрация была минимальной. Интравитреальное введение препаратов (пиоглитазона и ранибизумаба) производили на 12 сутки.

Для *транскрипционного анализа (Microarray transcription analysis)* из выделенных образцов тканей (нейроэпителий, пигментный эпителий) суммарную РНК экстрагировали с помощью реагента TRIzol (Invitrogen Life Technologies, США) в соответствии с рекомендациями производителя. Количество полученной общей РНК оценивали с использованием спектрофотометра NanoDrop (NanoDrop Technologies, США) в соответствии с протоколом производителя. Качество РНК проверяли с помощью чипа Agilent Total RNA Nano 6000 (Agilent Technologies, США). По 400 нг общей РНК каждого образца амплифицировали с помощью Illumina® TotalPrep™ RNA Amplification Kit (Ambion, США). Амплифицированную РНК гибридизовали с MouseRef-8 v2.0 Expression BeadChips (Illumina) в соответствии с протоколом Illumina.

Статистическая обработка полученных результатов выполнялась в соответствии со стандартными алгоритмами вариационной статистики с использованием статистических программ Microsoft Excel, STATISTICA 10.0.

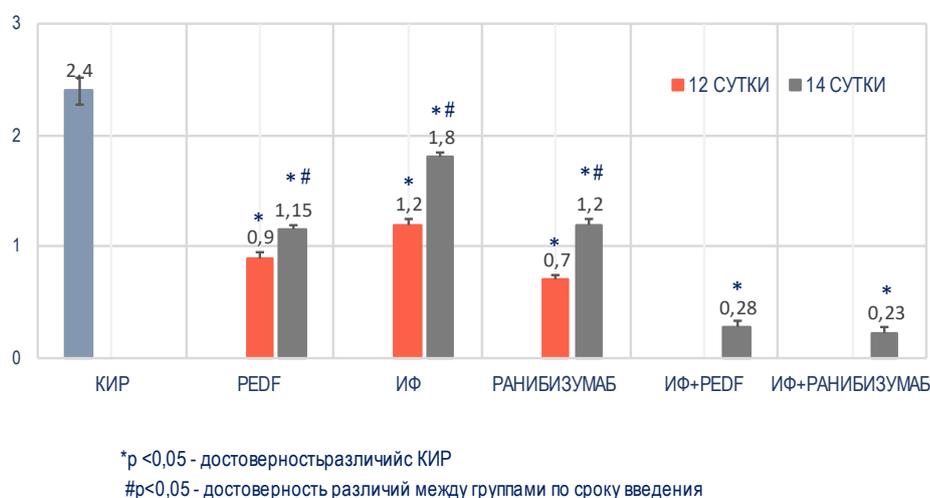
Статистический анализ включал сравнительный анализ изучаемых показателей в группах, сформированных в соответствии с задачами исследования (критерий Стьюдента или критерий Манна–Уитни). Количественные показатели представлены средним арифметическим значением и ошибкой среднего арифметического в виде  $M \pm m$ . Для оценки силы корреляционной взаимосвязи изучаемых показателей вычисляли коэффициенты корреляции по Пирсону и Спирмену.

Сравнительный анализ экспрессии ретинальных генов проводили с помощью программного обеспечения GenomeStudio (Illumina, США), модуля экспрессии генов. Для интерпретации результатов транскрипционного анализа использовали транскрипты с параметром Detection\_Pval <0,01.

## Результаты исследования и их обсуждение

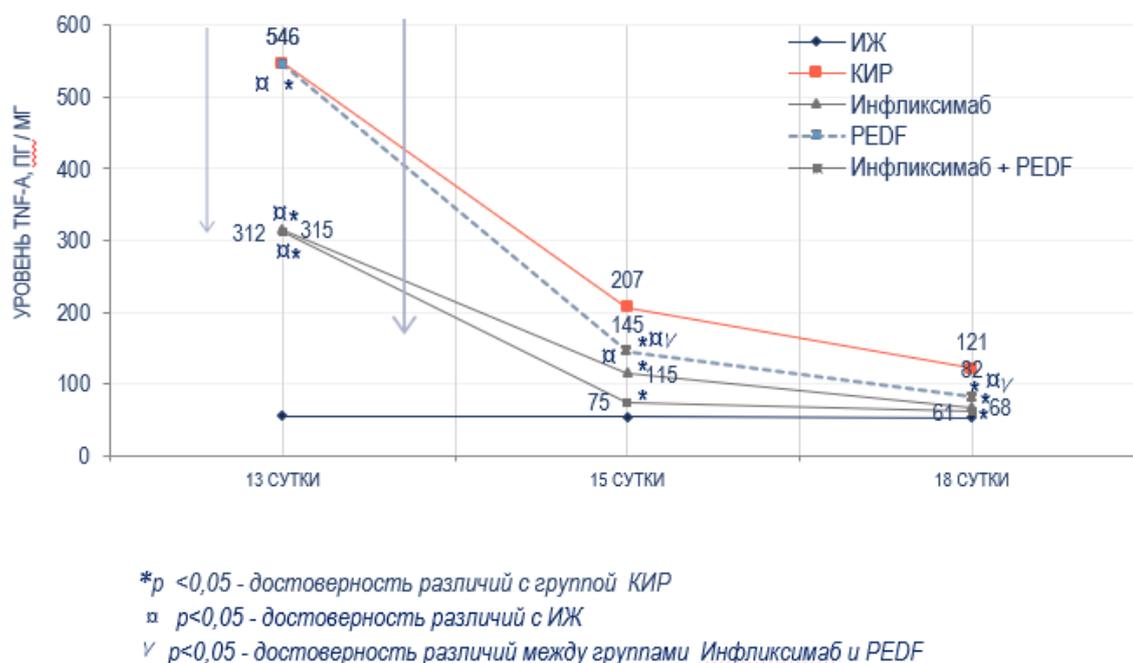
### Результаты исследования первого раздела

Полученные данные сравнительного анализа уровня содержания TNF- $\alpha$ , VEGF и площади ретинальной неоваскуляризации у крыс с КИР и интактных животных свидетельствуют о том, что в группе животных с КИР уровень содержания TNF- $\alpha$  и VEGF в ткани сетчатки выше, чем в группе интактных животных; максимальный уровень их содержания наблюдается на 13 и 15 сутки, соответственно; показатель площади ретинальной неоваскуляризации находится в прямой корреляционной зависимости от уровня VEGF ( $r = 0,86$ ;  $p < 0,05$ ) и TNF- $\alpha$  ( $r = 0,72$ ;  $p < 0,05$ ), уровень VEGF тем выше, чем выше TNF- $\alpha$  ( $r = 0,72$ ;  $p < 0,05$ ). TNF- $\alpha$ , по всей вероятности, может являться еще одной терапевтической мишенью при неоваскулярной патологии сетчатки (Рис.1).



**Рис. 1.** Уровень содержания TNF- $\alpha$  и VEGF у животных с кислород-индуцированной ретинопатией

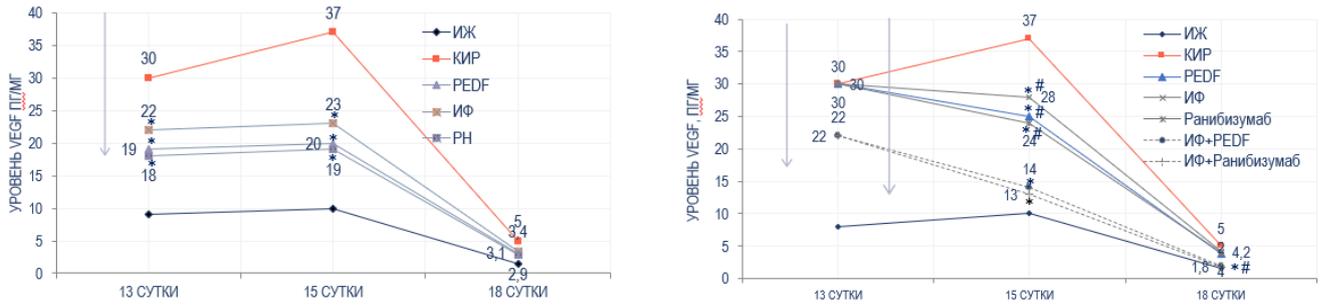
При введении Инфликсимаба на 12 и 14 сутки уровень содержания TNF- $\alpha$  на 13 и 15 сутки при сравнительном анализе был ниже, чем в группе животных с КИР ( $p < 0,05$ ). При введении препарата на 12 сутки уровень содержания TNF- $\alpha$  на 15 сутки был в 1,5 раза ниже, чем при его введении на 14 сутки. На 18 сутки уровень содержания TNF- $\alpha$  при введении Инфликсимаба на 12 сутки достоверно не отличался от уровня его содержания в группе интактных животных и был ниже, чем при введении на 14 сутки. При введении PEDF на 12 сутки уровень содержания TNF- $\alpha$  независимо от срока исследования был ниже, чем в группе животных с КИР (Рис. 2).



**Рис. 2.** Уровень содержания TNF- $\alpha$  у животных с кислород-индуцированной ретинопатией в результате TNF- $\alpha$ , VEGF и TNF- $\alpha$ -VEGF блокады.

Таким образом, Инфликсимаб и комбинированное его применение с PEDF у животных с КИР позволяет значительно снизить уровень содержания TNF- $\alpha$  в ткани сетчатки на 15 и 18 сутки ( $p < 0,05$ ).

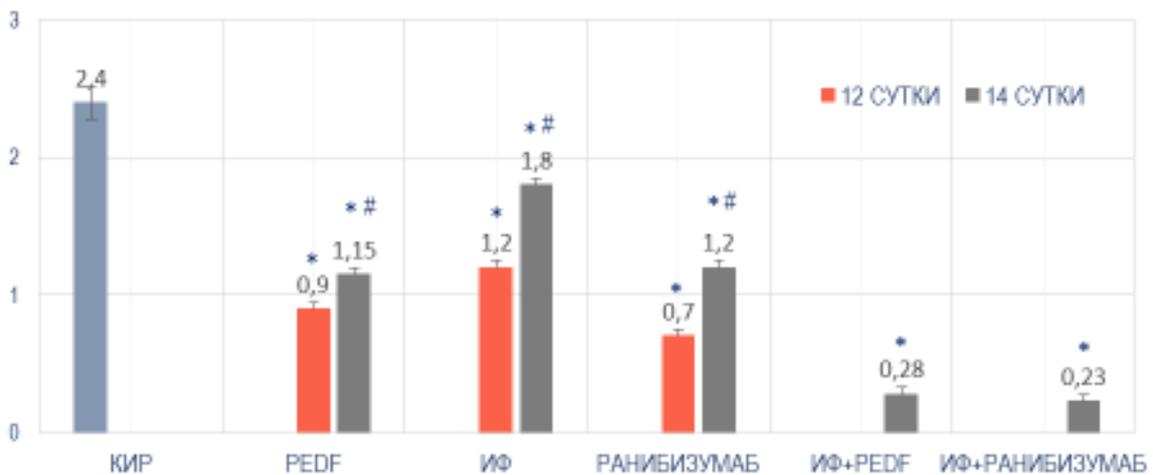
Уровень содержания VEGF на всех сроках наблюдения во всех группах животных был достоверно ниже, чем в группе животных с КИР. При введении препаратов и PEDF на 12 сутки уровень содержания VEGF в ткани сетчатки на 15 и 18 сутки ниже, чем при их введении на 14 сутки ( $p < 0,05$ ). В группах с комбинированным применением препаратов уровень содержания VEGF на 15 и 18 сутки был ниже, чем в группах с изолированным их введением на 12 сутки и ниже, чем в группе животных с КИР в 2,6 и 2,8 раза, соответственно (Рис.3).



\* $p < 0,05$  - достоверность различий с группой КИР  
 # $p < 0,05$  - достоверность различий между группами по сроку введения

**Рис. 3.** Уровень содержания VEGF у животных с КИР в результате TNF- $\alpha$ , VEGF и TNF- $\alpha$ -VEGF блокады

Площадь ретиальной неоваскуляризации в группах Инфликсимаб + РЕДФ и Инфликсимаб + Ранибизумаб была достоверно меньше, чем в группах с изолированным их введением на 14 и 12 сутки (Рис.4)



\* $p < 0,05$  - достоверность различий с КИР  
 # $p < 0,05$  - достоверность различий между группами по сроку введения

**Рис. 4.** Площадь ретиальной неоваскуляризации (в %) у животных с КИР в результате TNF- $\alpha$ , VEGF и TNF- $\alpha$ -VEGF блокады (18 сутки).

Таким образом, TNF- $\alpha$ -блокада, при проведении в установленные сроки, позволяет эффективно снизить уровень содержания TNF- $\alpha$  в ткани сетчатки у животных с КИР; комбинированная TNF- $\alpha$ -VEGF блокада, при проведении в установленные сроки, позволяет более эффективно, чем изолированная VEGF - блокада, снизить уровень содержания VEGF в

ткани сетчатки, избежать значительных его перепадов и предотвратить формирование неоваскуляризации (Рис.5).



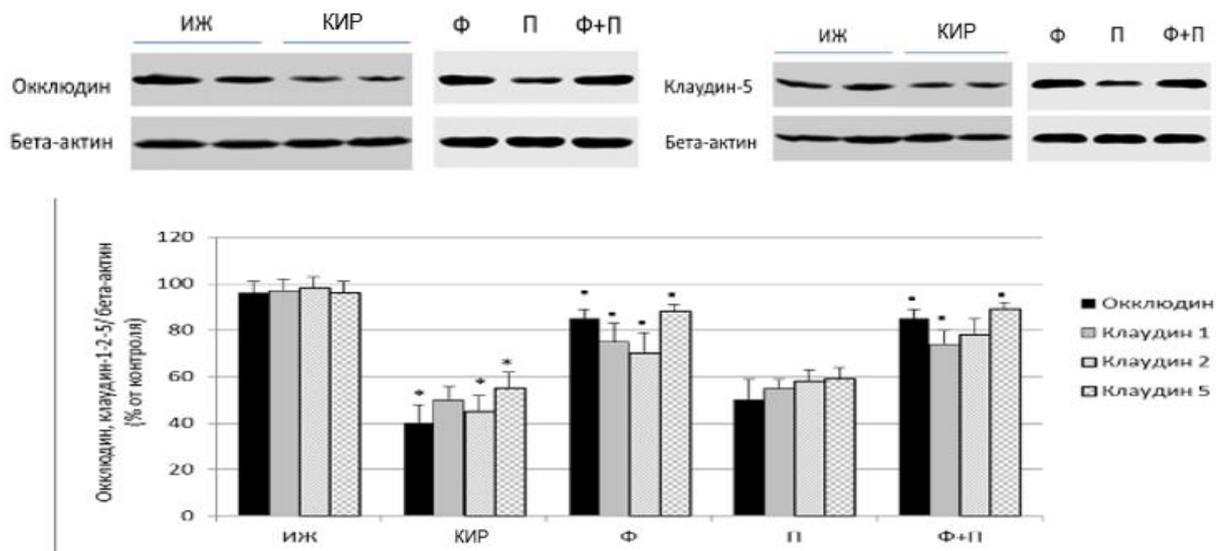
**Рис. 5.** Эффективность TNF-α, VEGF и TNF-α- VEGF блокады в регуляции неоваскуляризации у животных с кислород-индуцированной ретинопатией

TNF-α является прямым и VEGF – опосредованным индуктором неоваскуляризации при КИР; динамическое изменение уровня содержания TNF-α и VEGF в ткани сетчатки в процессе формирования КИР происходит в соответствии с определенными выявленными закономерностями.

#### *Результаты исследования второго раздела*

При исследовании уровня содержания мембранных белков плотных контактов в группе животных с КИР выявлено достоверное снижение окклюдина, клаудина -1, -2 и -5. В группах животных с применением фенофибратной композиции и комбинированным ее применением с пиоглитазоном уровень содержания белков плотных контактов был выше ( $p < 0,05$ ), чем в группе животных с КИР; в группе с комбинированным применением препаратов уровень клаудина - 5 составлял  $89 \pm 3,2\%$ , окклюдина –  $85 \pm 4,3\%$ , клаудина - 2 и клаудина -1 –  $78 \pm 7,2\%$  и  $74 \pm 6,1\%$ , соответственно (Рис. 6).

Полученные результаты косвенно свидетельствуют о том, что применение фенофибрата в используемой композиции позволяет предотвратить резкое нарушение проницаемости гематоретинального барьера.

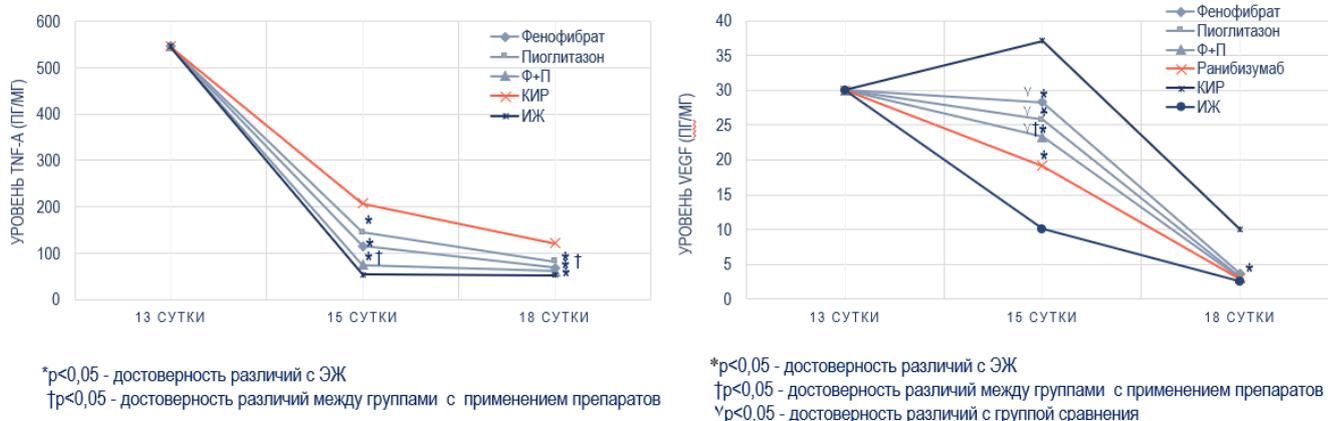


**Рис. 6.** Мембранные белки плотных контактов (окклюдин, клаудин -1-2-5) у животных с КИР при инстилляциях фенофибратной композиции и интравитреальном введении пиоглитазона

Примечание: \*  $p < 0,05$  - достоверность различий в группах КИР и ИЖ

▪  $p < 0,05$  - достоверность различий с группой КИР

Уровень содержания  $TNF-\alpha$  на 15 сутки во всех группах животных с использованием фенофибратной композиции и пиоглитазона был достоверно ниже, чем в группе животных с КИР в 1,7 и 1,8 раз, соответственно. Уровень содержания VEGF на 15 и 18 сутки во всех группах был достоверно ниже ( $p < 0,05$ ), чем в группе животных с КИР. На 15 сутки в группе животных с комбинированным применением был ниже, чем при изолированном применении и во всех группах достоверно выше, чем в группе сравнения с интравитреальным введением Ранибизумаба (Рис.7).



\* $p < 0,05$  - достоверность различий с ЭЖ  
† $p < 0,05$  - достоверность различий между группами с применением препаратов

\* $p < 0,05$  - достоверность различий с ЭЖ  
† $p < 0,05$  - достоверность различий между группами с применением препаратов  
‡ $p < 0,05$  - достоверность различий с группой сравнения

**Рис. 7.** Уровень содержания  $TNF-\alpha$  (пг/мл) и VEGF у животных с КИР при инстилляциях фенофибратной композиции и интравитреальном введении пиоглитазона.

Во всех группах животных с использованием фенофибрата и пиоглитазона на 15 и 18 сутки уровень содержания молекулы клеточной адгезии ICAM-1 был достоверно ниже, чем в группе животных с КИР, достоверной разницы между группами выявлено не было (Табл.1).

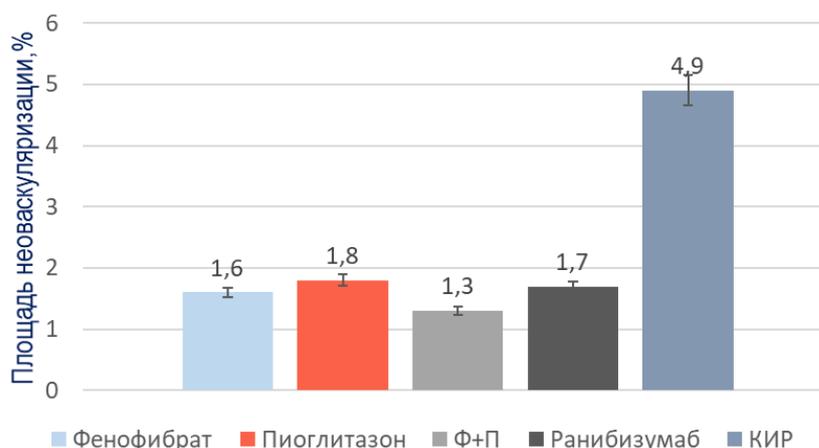
**Таблица 1.**

Уровень содержания ICAM-1 (пг/мг) у животных с КИР при инстилляциях фенофибратной композиции и интравитреальном введении пиоглитазона

Группы животных	Сутки наблюдения	
	15	18
Фенофибрат	241,4 ± 7,37*	215,4 ± 6,37*
Пиоглитазон	251,1 ± 6,65*	230,3 ± 9,21*
Фенофибрат + Пиоглитазон	243,5 ± 5,48*	225,2 ± 7,27*
Животные с КИР	309,2 ± 6,13	280,8 ± 5,23
Интakтные животные	165,1 ± 4,45	150,9 ± 4,27

\*p<0,05 - достоверность различий с КИР

Площадь ретинальной неоваскуляризации в группах с изолированным и комбинированным применением фенофибратной композиции и пиоглитазона была достоверно меньше, чем в группе животных с КИР, достоверной разницы между группами выявлено не было.



**Рис.8.** Площадь ретинальной неоваскуляризации (%) у животных с КИР при инстилляциях фенофибратной композиции и интравитреальном введении пиоглитазона.

Между уровнем содержания TNF- $\alpha$ , VEGF и площадью ретинальной неоваскуляризации при использовании препаратов агонистов PPAR $\alpha$  и PPAR $\gamma$  выявлено наличие средней корреляционной зависимости ( $r = 0,54$ ;  $p < 0,05$  и  $r = 0,61$ ;  $p < 0,05$ , соответственно), что

свидетельствует о наличии у представителей этих групп препаратов других ангиогенных механизмов.

Таким образом, применение PPAR $\alpha$  и PPAR $\gamma$  агонистов снижает уровень TNF- $\alpha$ , VEGF и площадь ретикулярной неоваскуляризации, а применение фенофибрата (PPAR $\alpha$  агониста) в виде инстилляций позволяет предотвратить резкое нарушение проницаемости гематоретинального барьера.

#### *Результаты исследования третьего раздела*

В результате и/в введения VEGF наблюдалось увеличение экспрессии генов - ингибиторов неоваскуляризации: Psen2 - в 325 раз, Rhbdf1 – в 1,5 раза, Tsp1 – в 1,2 раза, Igfbp4 – в 1,24 раза; снижение экспрессии генов, стимулирующих ангиогенез - Irs2 и Egr1 и увеличение экспрессии гена Upp1, обладающего проангиогенными свойствами.

При лазерном воздействии осуществляется коррекция изменений ретикулярной экспрессии генов ангиогенеза, развивающихся при интравитреальном введении VEGF, - снижается экспрессия гена Upp1, обладающего проангиогенными свойствами, нормализуется экспрессия компенсаторно повышенного уровня генов Rhbdf1 и Igfbp4, являющихся ингибиторами неоваскуляризации (при микроимпульсном режиме излучения), увеличивается экспрессия Igfbp4 (при непрерывном режиме лазерного излучения) (Табл.2).

**Таблица 2.**

Сравнительный анализ экспрессии генов ангиогенеза в сетчатке мышей линии C57BL/6J при лазерном воздействии в микроимпульсном и непрерывном режимах ( $p < 0,01$ )

Название (символ) гена	Соотношение между группами (Ratio)		
	1 группа 2-1	2 группа 3-2	3 группа 4-2
Uridine Phosphorylase 1 (Upp1)	2,576	-0,566	-0,523
Rhomboid 5 Homolog 1 (Rhbdf1)	1,463	-0,809	-0,754
Insulin Like Growth Factor Binding Protein 4 (Igfbp4)	1,236	1,187	2,095

Выявлено, что при лазерном воздействии в микроимпульсном режиме при отсутствии изменений экспрессии в результате интравитреального введения VEGF увеличивается экспрессия генов с антиангиогенными свойствами (Vldlr, Ankrd23, Mir-16) и снижается экспрессия генов с проангиогенными свойствами (Vezf1, Ifitm, Acta2) (Табл. 3).

При лазерном воздействии в непрерывном режиме наблюдалось достоверное изменение экспрессии генов, участвующих в регуляции функций эндотелиального барьера и ангиогенеза: экспрессия генов с антиангиогенными свойствами как повысилась (TKT – нормализовалась после снижения при введении VEGF, и IGFBP4,  $p < 0,01$ ), так и снизилась (RAB6B, CTNNA1, F11R, EIF4A1, EIFH4,  $p < 0,01$ ), экспрессия генов с проангиогенными свойствами также

повысилась (CSF1R, MGP, FGF1, OLFML3, PTN,  $p < 0,01$ ) и снизилась (HSP90B1, SDCBP, XBP1, S100A10, LTF,  $p < 0,01$ ) (Табл. 4).

Результаты исследований размещены в Национальном центре биотехнологической информации США (The National Center for Biotechnology Information – NCBI), регистрационный номер GSE131046

ссылка: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE131046>

**Таблица 3.**

Сравнительный анализ экспрессии генов ангиогенеза при лазерном воздействии в микроимпульсном режиме ( $p < 0,01$ )

Аббревиатура	Наименование гена	Accession №	Соотношение между группами (2/3)
ANKRD23	Ankyrin Repeat Domain 23	NM_153502.3	1.641
VLDLR	Very Low Density Lipoprotein Receptor	NM_013703.1	1.395
VEGFA	Vascular Endothelial Growth Factor A	NM_009505.3	1.359
MIR16	MicroRNA 16	NM_019580.3	1.165
IFITM1	Interferon Induced Transmembrane Protein 1	NM_026820.2	-0.374
ACTA2	Actin, Alpha 2, Smooth Muscle, Aorta	NM_007392.2	-0.753
VEZF1	Vascular Endothelial Zinc Finger 1	NM_016686.3	-0.816

**Таблица 4.**

Сравнительный анализ экспрессии генов ангиогенеза при лазерном воздействии в непрерывном режиме

Аббревиатура	Наименование гена	Accession №	Соотношение между группами (2/1) * - $p < 0,01$	Соотношение между группами (4/2) $p < 0,01$
LTF	Lactotransferrin	NM_008522.2	3,8*	-0,3
HSP90B1	Heat Shock Protein 90 Alpha Family Class B Member 1	NM_011631.1	1,5	-0,6
SDCBP	Syndecan Binding Protein	NM_001098227.1	1,3	-0,7

S100A10	S100 Calcium Binding Protein A10	NM_009112.2	1,3	-0,7
XBP1	X-Box Binding Protein 1	NM_013842.2	1,2	-0,5
IGFBP4	Insulin Like Growth Factor Binding Protein 4	NM_010517.3	1,2*	1,3
RAB6B	RAB6B, Member RAS Oncogene Family	NM_173781.3	1,2	-0,8
CTNNA1	Catenin Alpha 1	NM_009818.1	1,1	-0,8
F11R	F11 Receptor	NM_172647.2	1,1	-0,6
CCNG1	Cyclin G1	NM_009831.2	1,1	-0,4
HSP90AB1	Heat Shock Protein 90 Alpha Family Class B Member 1	NM_008302.3	1,0	-0,8
PTN	Pleiotrophin	NM_008973.2	1,0	1,3
EIFH4	Eukaryotic Translation Initiation Factor 4H	NM_033561.1	1,0	-0,9
PRDX1	Peroxiredoxin 1	NM_011034.2	1,0	-0,7
TKT	Transketolase	NM_009388.2	-0,5	2,2
CSF1R	Colony Stimulating Factor 1 Receptor	NM_001037859.2	-0,7	1,8
FGF1	Fibroblast Growth Factor 1	NM_010197.3	-0,8	1,5
JMJD6	Jumonji Domain Containing 6, Arginine Demethylase And Lysine Hydroxylase	NM_033398.2	-0,8	-0,7
MGP	Matrix Gla Protein	NM_008597.3	-0,9	1,6
OLFML3	Olfactomedin Like 3	NM_133859.2	-0,9	1,5
EIF4A1	Eukaryotic Translation Initiation Factor 4A1	NM_144958.2	-1,0	-0,8

### ВЫВОДЫ:

1. TNF- $\alpha$  является прямым и VEGF - опосредованным индуктором неоангиогенеза при кислород-индуцированной ретинопатии (КИР); динамическое изменение уровня содержания TNF- $\alpha$  и VEGF в ткани сетчатки в процессе формирования КИР происходит в соответствии с определенными выявленными закономерностями - максимальный уровень их содержания наблюдается на 13 и 15 сутки, соответственно. Площадь ретинальной

неоваскуляризации находится в прямой корреляционной зависимости от VEGF ( $r = 0,86$ ;  $p < 0,05$ ) и TNF- $\alpha$  ( $r = 0,72$ ;  $p < 0,05$ ), уровень VEGF тем выше, чем выше уровень TNF- $\alpha$  ( $r = 0,78$ ;  $p < 0,05$ ).

2. TNF- $\alpha$  - блокада, при проведении на 12 сутки жизни, позволяет эффективно снизить уровень содержания TNF- $\alpha$  в ткани сетчатки у животных с КИР; комбинированная TNF- $\alpha$ - VEGF блокада, при проведении ее на 12 и 14 сутки соответственно, позволяет более эффективно, чем изолированная VEGF - блокада, снизить уровень содержания VEGF в ткани сетчатки, избежать значительных его перепадов и предотвратить формирование неоваскуляризации.
3. Применение PPAR $\alpha$  и PPAR $\gamma$  агонистов у животных с КИР позволяет эффективно снизить уровень содержания TNF- $\alpha$  и VEGF в ткани сетчатки и предотвратить формирование ретинальной неоваскуляризации.
4. VEGF - индуцированные изменения экспрессии генов ангиогенеза - компенсаторное увеличение экспрессии генов - ингибиторов неоваскуляризации - Psen2, Rhbdf1, Tsp1, Igfbp4, снижение экспрессии генов, стимулирующих ангиогенез - Irs2 и Egr1 и увеличение экспрессии гена Upp1, обладающего проангиогенными свойствами
5. При лазерном воздействии с длиной волны 577 нм в микроимпульсном режиме осуществляется коррекция VEGF - индуцированных изменений экспрессии генов ангиогенеза - снижается экспрессия гена Upp1 с проангиогенными свойствами и нормализуется экспрессия генов Rhbdf1 и Igfbp4 - ингибиторов неоваскуляризации; увеличивается экспрессия генов с антиангиогенными свойствами - Vldlr, Ankrd23, Mir-16 и снижается экспрессия генов с проангиогенными свойствами - Vezf1, Ifitm, Acta2.
6. При лазерном воздействии с длиной волны 577 в непрерывном режиме осуществляется коррекция VEGF - индуцированных изменений экспрессии генов ангиогенеза - снижается экспрессия гена Upp1 с проангиогенными свойствами, нормализуется экспрессия компенсаторно повышенного уровня гена Rhbdf1 - ингибитора ангиогенеза и увеличивается экспрессия гена Igfbp4 – ингибитора ангиогенеза; увеличивается экспрессия генов, как с антиангиогенными – ТКТ, так и проангиогенными свойствами - CSF1R, MGP, FGF1, OLFML3, PTN, и снижается экспрессия, как с проангиогенными - HSP90B1, SDCBP, XBP1, S100A10, LTF, HSP90AB1, PRDX1, JMJD, CCNG1, так и с антиангиогенными свойствами - RAB6B, CTNNA1, F11R, EIF4A1 и EIFH4.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Полученные результаты свидетельствуют о возможности и эффективности применения агонистов PPAR $\alpha$  и PPAR $\gamma$ , а также о целесообразности использования ингибиторов TNF- $\alpha$  при патологии, связанной с формированием патологической неоваскуляризации. Полученные результаты о регуляции ретинальной экспрессии генов ангиогенеза в результате воздействия

на сетчатку лазерного излучения с длиной волны 577 нм в микроимпульсном и непрерывном режимах при интравитреальном введении 50 нг/мл рекомбинантного VEGF165 позволяют дополнить имеющиеся представления о механизмах действия режимов лазерного излучения и расширить показания для использования лазерного излучения с длиной волны 577 нм в микроимпульсном режиме при ретиальной неоваскулярной патологии.

## СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

### Статьи в рецензируемых научных изданиях по специальностям 3.3.3.

#### Патологическая физиология, 3.1.5. Офтальмология и приравненные к ним публикации

1. Гаврилова Н.А. Результаты применения агонистов PPAR $\alpha$  и PPAR $\gamma$  при моделировании кислород-индуцированной ретинопатии / Гаджиева Н.С., **Комова О.Ю.**, Карамышева Е.И. // Современные проблемы науки и образования. – 2016. - № 3. - С. 130.
2. Гаврилова Н.А. Изменения экспрессии генов в сетчатке при интравитреальном введении VEGF в эксперименте / Борзенок С.А., Обрубов С.А., Гаджиева Н.С., **Комова О.Ю.** // Российская детская офтальмология. - 2017. - № 1. - С. 25-34.
3. Гаврилова Н.А. Анализ ретиальной экспрессии генов, участвующих в регуляции ангиогенеза и функций эндотелиального барьера после воздействия лазерного излучения с длиной волны 577 нм в непрерывном режиме на сетчатку / Гуревич К.Г., **Комова О.Ю.**, Зиновьева А.В. // Человек и его здоровье. - 2021. - Т. 24. - № 2. - С. 37-45.
4. **Патент № 2652342 Российской Федерации. МПК А61К 9/08 (2006.01), А61К 31/045 (2006.01)** Композиция для лечения ретиальной неоваскуляризации в эксперименте и способ лечения с ее использованием: №2017124962: заявл. 13.07.2017: опубл. 25.04.2018 / Гаврилова Н.А., Карамышева Е.И., Комова О.Ю., Артюшкова Е.Б., Рыкова Н.И., Анурова Е.В.
5. GavriloVA N.A. Molecular genetic mechanisms of influence of laser radiation with 577 nm wavelength in a microimpulse mode on the condition of the retina / Borzenok S.A., Gadzhieva N.S., Tishchenko O.E., **Комова O.U.**, Zinov'eva A.V., Solomin V.A., Zaletaev D.V. // Experimental Eye Research. - 2019. - Т. 185. - С. 107650.

#### Прочие публикации:

1. Гаврилова Н.А. Анализ ретиальной экспрессии генов после воздействия лазерного излучения с длиной волны 577 нм в микроимпульсном режиме на сетчатку / Борзенок С.А., Залетаев Д.В., Соломин В.А., Гаджиева Н.С., Тищенко О.Е., **Комова О.Ю.**, Зиновьева А.В. // Лазерная медицина. - 2019. - Т. 23. - № S3. - С. 69-70.
2. Гаврилова Н.А. Изменения транскриптома сетчатки в эксперименте при интравитреальном введении VEGF / Гаджиева Н.С., **Комова О.Ю.**, Филиппова Э.В., Горемыкина Н.Б. // Научное обозрение. Медицинские науки. - 2016. - № 6. - С. 36-47.

3. Гаврилова Н.А. Анализ результатов применения инфликсимаба, PEDF и ранибизумаба на модели кислород-индуцированной ретинопатии / Широков В.Е., **Комова О.Ю.**, Бантыш О.Б., Сабурин И.Н., Ревущин А.В., Павлова Г.В. // Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки. - 2015. - Т. 20. - № 3. - С. 539-544.
4. Лямина С.В. Клеточные и молекулярные механизмы патогенеза неоваскуляризации сетчатки/ **Комова О.Ю.**, Гаврилова Н.А., Малышев И.Ю. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. - 2015. - № 9-2. - С. 288-292.

### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ТЕРМИНОВ

ВМД	Возрастная макулярная дегенерация
ДМО	Диабетический макулярный отек
ДР	Диабетическая ретинопатия
КИР	Кислород-индуцированная ретинопатия
ЛК	Лазерная коагуляция
ПДР	Пролиферативная диабетическая ретинопатия
РВО	Ретинальная венозная окклюзия
РН	Ретинопатия недоношенных
СД	Сахарный диабет
ICAM-1	Молекула клеточной адгезии
PEDF	Фактор пигментного эпителия
PPARs	Ядерные рецепторы, активируемые пероксисомным пролифератором
TNF- $\alpha$	Фактор некроза опухоли альфа
VEGF	Эндотелиальный сосудистый фактор роста