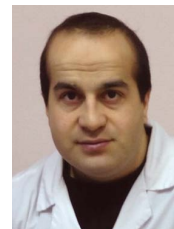


Митохондриальная ДНК как фактор развития глаукомной оптической нейропатии

И.Р. Газизова¹И.О. Мазунин²Т.Н. Малишевская³О.А. Киселева³А.М. Гаджиев⁴Ал-М. Ринджибал¹

¹ ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»

ул. Академика Павлова, 12, Санкт-Петербург, 197376, Российская Федерация

² Центр геномных исследований, Балтийский федеральный университет им. И. Канта
ул. А. Невского, 14, Калининград, 236016, Российская Федерация

³ Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца
ул. Садовая-Черногрозская, 14/19, Москва, 105062, Российская Федерация

⁴ ГБУЗ Ленинградской области «Всеволожская клиническая межрайонная больница»
Колтушское шоссе, 20, Всеволожск, 188640, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Офтальмология. 2019;16(4):479–486

В последнее время митохондриальная компонента играет все более весомую роль в развитии и прогрессировании глаукомной оптической нейропатии. Поскольку митохондрии имеют собственный генетический аппарат, изучение качественных и количественных изменений митохондриальной ДНК (мтДНК) становится частью диагностики заболевания, помимо изучения функциональных особенностей самих органелл. Кроме того, изучению мтДНК способствует невозможность объяснить природу заболевания известными мутациями ядерной ДНК. В настоящем обзоре мы останавливаемся на особенностях митохондриальной генетики и роли митохондриальных гаплогрупп в манифестации заболевания, суммируем накопленные данные о качественных и количественных изменениях мтДНК у пациентов с глаукомой. Обсуждаем также подход по предотвращению наследования мутантной мтДНК как части вспомогательных репродуктивных технологий, а также первые шаги в сторону манипуляции уровнем гетероплазмии и направленного редактирования генома митохондрий. Особое значение для практической медицины имеет изучение указанных нарушений в связи с разработкой в этой области эффективных методов терапевтической коррекции.

Ключевые слова: глаукомная оптическая нейропатия, первичная открытоугольная глаукома, митохондриальная дисфункция, митохондриальная генетика, митохондриальная ДНК (мтДНК), митохондриальные гаплогруппы, коррекция мутаций мтДНК, митохондриальный окислительный стресс

Для цитирования: Газизова И.Р., Мазунин И.О., Малишевская Т.Н., Киселева О.А., Гаджиев А.М., Ринджибал Ал-М. Митохондриальная ДНК как фактор развития глаукомной оптической нейропатии. *Офтальмология*. 2019;16(4):479–486. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2019-4-479-486>

Прозрачность финансовой деятельности: Никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах

Конфликт интересов отсутствует



Mitochondrial DNA as a Factor of Glaucomous Optic Neuropathy's Development Mechanism

I.R. Gazizova¹, I.O. Mazunin², T.N. Malishevskaya³, O.A. Kiseleva³, A.M. Gadzhiev⁴, Al-M. Rindzhibal¹

¹ Institute of Experimental Medicine

Akademika Pavlova str., 12, Saint Petersburg, 197376, Russian Federation

² Center for Genomic Research, Immanuel Kant Baltic Federal University

A. Nevskogo str., 14, Kaliningrad, 236016, Russian Federation

³ Helmholtz National medical center of Eye Diseases

Sadovaya-Chernogryazskaya str., 14/19, Moscow, 105062, Russian Federation

⁴ Institution of health care of Leningrad region «Vsevolozhsk clinical interdistrict hospital»

Koltushskoe highway, 20, Vsevolozhsk, 188640, Russian Federation

ABSTRACT

Ophthalmology in Russia. 2019;16(4):479–486

Currently, the mitochondrial component is becoming increasingly significant in the development and progression of glaucoma optic neuropathy. Since mitochondria have their own genetic apparatus, the study of qualitative and quantitative changes in mitochondrial DNA (mtDNA) becomes part of the disease diagnosis, in addition to studying the functional characteristics of the organelles alone. Moreover, the inability to explain the nature of the disease by known mutations of nuclear DNA contributes to the study of mtDNA. In this review, we briefly discuss the mitochondrial genetics and the role of mitochondrial haplogroups in the diseases manifestation. We summarize the accumulated data on the qualitative and quantitative changes in mtDNA in patients with glaucoma. We discuss the approach to prevent the inheritance of mutant mtDNA as a part of assisted reproductive technologies, as well as the first steps towards the mtDNA heteroplasmy level manipulation and direct mtDNA editing.

Keywords: glaucoma optic neuropathy, primary open-angle glaucoma, mitochondrial dysfunction, mitochondrial genetics, mitochondrial DNA (mtDNA), mitochondrial haplogroups, mtDNA mutations correction, mitochondrial oxidative stress

For citation: Gazizova I.R., Mazunin I.O., Malishevskaya T.N., Kiseleva O.A., Gadzhiev A.M., Rindzhibal Al-M. Mitochondrial DNA as a Factor of Glaucomous Optic Neuropathy's Development Mechanism. *Ophthalmology in Russia*. 2019;16(4):479–486. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2019-4-479-486>

Financial Disclosure: No author has a financial or property interest in any material or method mentioned

There is no conflict of interests

ВВЕДЕНИЕ

Проблема первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ) считается одной из приоритетных в офтальмологии в силу высокой медико-социальной значимости. В мире этой патологией страдают от 66 до 105 миллионов человек, и это число постоянно увеличивается, а в структуре слепоты и слабовидения глаукома занимает лидирующее положение [1, 2]. У больных глаукомой прогрессивно ухудшаются зрительные функции, а заболевание переходит в более тяжелую стадию вплоть до необратимой слепоты, так как остановить процесс нейродегенерации вследствие глаукомной оптической нейропатии не представляется возможным [3–7]. В последние десятилетия отдельную роль в развитии и прогрессировании глаукомной оптической нейропатии отдают митохондриальной дисфункции [8, 9]. Именно митохондриальный путь апоптоза клеток ганглионарного слоя сетчатки и зрительного нерва при глаукоме считают основным [10, 11]. Изменения митохондрий при ПОУГ также были показаны в экспериментальных и клинических исследованиях [12, 13]. Количество митохондрий очень велико в диске зрительного нерва, что обусловлено повышенной потребностью в АТФ клеток с высокой метаболической активностью [14]. Именно эта часть зрительного нерва наиболее уязвима к воздействию повышенного уровня ВГД. Высказываются предположения, что митохондри-

альная дисфункция у некоторых людей является predisposing фактором в развитии ПОУГ [15–23]. Вероятно, мутации митохондриальной ДНК (мтДНК) и ядерной ДНК, которые кодируют белки биогенеза митохондрий, могут приводить к абберации структуры и функции митохондрий, тем самым способствуя развитию и прогрессированию ПОУГ [24].

Учитывая, что основные факторы риска развития и прогрессирования глаукомной оптической нейропатии при ПОУГ еще не определены и что известные ядерные генетические аномалии выявлены у небольшой доли пациентов, ожидается, что исследования мутаций мтДНК значительно улучшат наше понимание генетической основы глаукомы и предоставят информацию об эффективности терапии данного заболевания.

КЛИНИЧЕСКАЯ КАРТИНА ГЛАУКОМЫ

Глаукома — это группа заболеваний, которая характеризуется прогрессирующей дегенерацией зрительного нерва, что сопровождается снижением зрительных функций и в итоге приводит к полной слепоте. Глаукома является основной причиной необратимой слепоты во всем мире. Повышенный уровень внутриглазного давления (ВГД) — главный фактор риска для основных видов глаукомы. Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) — наиболее распространенный вид глаукомы, который характеризуется наличием определенных признаков,

таких как открытый угол передней камеры, постоянное или периодическое повышение уровня ВГД, изменение полей зрения и специфическая дегенерация зрительного нерва. Однако существуют формы открытоугольной глаукомы, связанные с изменениями или включениями в углу передней камеры. Например, синдром псевдоэкзофолии характеризуется накоплением характерного фибриллярного материала на хрусталике и в трабекулярной сети. Отдельно выделяют открытоугольную глаукому с нормальным или псевдонормальным давлением, когда прогрессирующая потеря зрительных функций и дегенерация зрительного нерва происходят при нормальном или даже пониженном уровне ВГД. Причину данного явления до сих пор не удается найти. Глаукома может возникать в любом возрасте, при этом заболевание с ранним началом (до 40 лет) характеризуется менделевским типом наследования, тогда как при позднем начале (после 40 лет) наследование происходит мультифакториально либо по цитоплазматическому типу.

МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ КОМПОНЕНТА В ПАТОГЕНЕЗЕ ГЛАУКОМНОЙ ОПТИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ

Как известно, митохондрии потребляют более 90 % доступных молекул свободного кислорода, 15 % из которых превращаются в активные формы кислорода (АФК) даже в нормальных физиологических условиях. Средняя респираторная активность митохондрий снижается с возрастом, что приводит к более высокой продукции АФК и образованию свободных радикалов [26]. Производство митохондриальной АТФ снижается, а количество АФК увеличивается с возрастом как у людей [25–27], так и у грызунов [28, 29]. Механизм гибели ганглиозных клеток сетчатки (ГКС) при глаукомной оптической нейропатии вследствие апоптоза аналогичен другим оптическим невропатиям, связанным с дисфункциями митохондрий [30, 31]. Как известно, ключевую роль в процессе необратимой запрограммированной гибели клетки играют митохондрии с измененными функциями [32–34]. Исследования при индуцированном повышении уровня ВГД на экспериментальной модели глаукомы крыс показали, что митохондриальная дисфункция и АИФ (апоптоз-индуцирующий фактор) играют решающую роль как при гибели ГКС, так и в дегенерации аксонов зрительного нерва [12]. Исследования на мышцах, у которых вызывали повышение ВГД, показали наличие снижения СОХ (цитохромоксидазы), митохондриального деления и уменьшение количества крист [13]. Кроме того, увеличение ВГД коррелировало с измененной экспрессией OPA1 (оптическая атрофия 1) и индукцией высвобождения OPA1 — белка, который играет решающую роль в слиянии митохондриальной внутренней мембраны [35]. Как известно, митохондрии — внутриклеточные органеллы, вырабатывающие энергию в виде аденозинтрифосфата (АТФ) в результате окислительного фосфорилирования различных субстратов.

Нарушение функции митохондрий по высвобождению энергии органических веществ и аккумуляции ее в виде макроэргических фосфатных соединений играет важную роль в патогенезе ПОУГ. Снижение дыхательной функции митохондрий, избыточная продукция активных форм кислорода (АФК), увеличение окислительного повреждения мтДНК приводят к нарушению тканевого дыхания и внутриклеточной сигнализации, развитию митохондриального оксидативного стресса и апоптоза. В связи с этим патогенетически обоснованное применение митохондриально адресованных, возобновляемых антиоксидантных и энерготропных препаратов представляется весьма перспективным.

ОСОБЕННОСТИ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ГЕНЕТИКИ

Не будет лишним вкратце обозначить особенности митохондриальной генетики. Во-первых, это многокопийность мтДНК — в зависимости от типа клетки количество копий мтДНК варьирует от нескольких сотен до нескольких сот тысяч. Существование множества копий мтДНК зачастую приводит к возникновению гетероплазмии, т.е. состоянию, при котором в одной клетке сосуществуют минимум два варианта мтДНК — мутантная и дикого типа. Патогенные мутации мтДНК, ассоциированные с различными клиническими проявлениями, находятся, как правило, в состоянии гетероплазмии. Нарастание количества мутантных мтДНК приводит к углублению симптоматики заболевания с возрастом. Здесь, однако, стоит отметить, что мутации в состоянии гетероплазмии более характерны для мультиорганных патологий, тогда как моноорганные патологии, к которым относят и оптические нейропатии, часто связывают с мутациями в состоянии гомоплазмии. Во-вторых, в силу повышенной концентрации активных форм кислорода внутри митохондрий мтДНК мутирует значительно быстрее (до 20 раз), нежели ядерная ДНК. В-третьих, мтДНК наследуется по женской линии (за некоторыми редкими исключениями), то есть характеризуется цитоплазматическим типом наследования. Структурно геном митохондрий человека представляет собой двухцепочечную кольцевую молекулу ДНК длиной 16 569 пар нуклеотидов и кодирующую 11 мРНК (для синтеза 13 белков комплексов окислительного фосфорилирования), 2 рРНК и 22 тРНК [36, 37].

Поскольку мтДНК передается по женской линии, сравнение последовательности мтДНК среди коренного населения планеты позволило восстановить древнее происхождение и миграцию женщин. Вся человеческая мтДНК происходит от одного африканского предка, который существовал в Африке примерно 200 тыс. лет назад. Эволюция «предковой» мтДНК (гаплогруппа мтДНК — сцепленное наследование нескольких полиморфизмов) привело к возникновению африканских гаплогрупп мтДНК, таких как L0, L1, L2, L3 и т. д., объединенных в макрогаплогруппу L. Примерно 65 тыс. лет

назад из гаплогруппы L3 возникли две гаплогруппы (N и M), носители которых успешно покинули Африку и колонизировали весь мир. Носители макрогаплогруппы N переместились в умеренную климатическую зону и дали начало европейским и азиатским линиям. Представители другой макрогаплогруппы — M мигрировали на восток через Юго-Восточную Азию и намного позже переместились на север Азии, определив возникновение линии макрогаплогруппы M. Европейские гаплогруппы макрогаплогруппы N включают H, I, J, K, T, U, V, W и X, тогда как азиатские гаплогруппы N включают A, B, F и N9a. Азиатские гаплогруппы макрогаплогруппы M включают C, D, G и M1–M40. Лица с тремя гаплогруппами мтДНК, A, C и D пересекли Берингов мост и колонизировали Америку примерно 20 тыс. лет назад, а затем к ним присоединились люди с гаплогруппами B и X [38].

Несмотря на то что функциональные варианты, связанные с гаплогруппами, могут иметь адаптивные преимущества в исходной среде, смена климатических условий может иметь негативные последствия. В результате в настоящее время мтДНК гаплогруппы ассоциированы с широким спектром метаболических и дегенеративных заболеваний, рака и долголетия [39]. То, что гаплогруппы мтДНК являются функционально важными, было продемонстрировано на клеточных линиях, имеющих одинаковое ядро, но разные мтДНК. Физиологический анализ таких линий достоверно показал их различия. Кроме того, были получены мышинные модели с идентичной ядерной ДНК, но с разными мтДНК гаплотипами, и было показано, что такие химеры различаются фенотипически [40]. Выявление потенциальной роли митохондриального генетического фона в различных отклонениях от физиологической нормы приведет к лучшему пониманию фенотипической изменчивости и варибельной экспрессии ядерно-кодированных мутаций, наследуемых по Менделю [41].

ПОИСК АССОЦИАЦИЙ ВАРИАНТОВ мтДНК С ГЛАУКОМОЙ

Очевидно, что мутации, возникающие в структуре мтДНК, могут негативно влиять на функционирование комплексов окислительного фосфорилирования. Однако работ, связывающих мутантные варианты мтДНК и клинические проявления заболевания, не так много. Так, секвенирование мтДНК пациентов с ПОУГ позволило выявить 27 новых несинонимичных (приводящих к замене аминокислоты в структуре белка) мутаций, 22 из которых были отнесены к потенциально патогенным. Интересно также, что количество копий мтДНК в группе пациентов варьировало в более широком диапазоне, нежели в контрольной группе [42]. В другом исследовании были проанализированы 101 мтДНК пациентов и 71 мтДНК контрольной группы после того, как не удалось обнаружить мутации в ядерной ДНК, ассоциированные с ПОУГ. Сравнение нуклеотидных последовательностей мтДНК показало, что в гене *ND5* пациентов с ПОУГ несинони-

мичные замены располагаются достоверно чаще, чем в контрольной группе. Обратная тенденция наблюдается для генома *ND1* и *ND2*. Также авторы исследования наблюдали увеличение нуклеотидного разнообразия в гене *12SrRNA* пациентов по сравнению с контрольной группой. Сравнение пациентов и контрольной группы по принадлежностям их мтДНК к определенным гаплогруппам не позволило выявить каких-либо зависимостей [43]. Еще одно исследование касалось изучения последовательности мтДНК афроамериканцев, страдающих ПОУГ. Авторы обнаружили несколько полиморфизмов, ранее не представленных в базе данных MITOMAP (<https://www.mitomap.org/MITOMAP>) в ассоциации с ПОУГ. Однако найденные мутации не выдержали критериев отнесения к патогенным [44]. Анализ мтДНК у 20 пациентов с глаукомой нормального давления позволил обнаружить 148 различных новых полиморфных сайтов, из которых три (m.4883C>T, m.9540T>C, m.14766C>T) статистически чаще встречались в группе пациентов с ПОУГ. Применяв поправку Бонферрони, авторы выделили лишь синонимичную мутацию m.4883C>T [45]. В другом исследовании была проанализирована мтДНК 16 пациентов с ПОУГ из Индии и 16 пациентов из Ирландии. Авторы обнаружили 7 новых и 8 ранее известных полиморфных вариантов мтДНК [46]. Была проведена попытка исследования полиморфных сайтов в тРНК, ассоциированных с врожденной глаукомой на основании имеющихся литературных данных. Авторы исследования выполнили филогенетический анализ (включая оценку индекса консервативности сайтов тРНК в других 16 видах позвоночных) и обнаружили, что только 6 мутаций (m.7527G>A, m.12153C>T, m.12172A>G, m.12308A>G, m.12330A>G, m.10410T>C) могут быть отнесены к категории патогенных [47]. В японском исследовании приняли участие 123 пациента, из которых 89 с глаукомой нормального давления и 34 с первичной открытоугольной глаукомой. Используя количественную ПЦР, авторы исследования сравнили количество копий мтДНК в образцах крови пациентов с ПОУГ и контрольной группы. Была показана связь между количеством копий мтДНК и измеренной с помощью лазерной спекл-флуорографии средней скоростью «размывания ткани» (снижение кровотока) в головке зрительного нерва [48]. Ассоциация принадлежности мтДНК к определенной гаплогруппе с развитием ПОУГ была изучена на 90 пациентах и 95 представителях контрольной группы. Показано, что принадлежность мтДНК к гаплогруппе U, а также некоторые редкие полиморфизмы в гене *ND2* могут оказывать протективный эффект на развитие заболевания [49]. Другое большое когортное исследование было выполнено на 4081 афроамериканце, из которых 1919 являются пациентами с ПОУГ. Было обнаружено, что мужчины, не принадлежащие гаплогруппе L, имеют повышенный риск развития ПОУГ. Данная работа еще раз подтверждает необходимость персонализированного подхода как к диагностическому скринингу, так и к лечению ПОУГ [50].

В целом представленные к настоящему времени данные не позволяют делать однозначные выводы об ассоциации конкретных мутаций и количестве копий мтДНК с патогенезом глаукомы. Кроме того, ни для одной из представленных мутаций не была создана клеточная линия для оценки ее функциональных последствий. Таким образом, можно заключить, что роль мтДНК в патогенезе глаукомы все еще не доказана.

ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ МУТАЦИЙ мтДНК

Несмотря на видимый прогресс генной терапии ядерной ДНК, редактирование мутантных мтДНК все еще остается нерешенной задачей. В настоящее время существуют два подхода для предотвращения наследования мутантной мтДНК. Первый подход представляет собой процедуру цитоплазматической замены, а именно, когда ядерную ДНК яйцеклетки донора перемещают в энуклеированную яйцеклетку реципиента [39, 51]. Следствием такой манипуляции является создание новых вариантов ядерно-цитоплазматической коммуникации [52]. Показаниями к применению подобной процедуры являются митохондриальные заболевания, ассоциированные с патогенными мутациями мтДНК, а также бесплодие неясной этиологии. В последнем случае роль митохондрий во многом сомнительна, и, скорее всего, положительный эффект дает замена всей цитоплазмы яйцеклетки [53]. Второй подход основан на использовании направляемых в митохондрии эндонуклеаз, специфически расщепляющих мутантную мтДНК. В частности, это направляемые в митохондрии эндонуклеазы рестрикции, TAL-эффektorные нуклеазы и нуклеазы типа «цинковые пальцы» [54]. Известно 6 патогенных мутаций (m.8993T>G, m.3243A>G, m.8344A>G, m.9176T>G, m.13513G>A, m.14459G>A) в геноме митохондрий и основная делеция (Δ 4977 п.о.), уровень гетероплазмы по которым был успешно снижен благодаря описанным системам. Обозначенные варианты импортируемых в митохондрии нуклеаз были использованы на мышинных моделях как на уровне яйцеклеток [55–57], так и в качестве генной терапии соматических клеток с использованием AAV вирусных векторов [58, 59]. Отдельно стоит отметить системы редактирования на основе CRISPR [60]. Линейка таких систем широко используется в отношении ядерной ДНК, однако до сих пор остается под сомнением их применение к геному митохондрий человека [61]. В настоящее время активно пытаются модифицировать CRISPR системы для редактирования генома митохондрий [62–65].

Описанный подход позволяет лишь уменьшать количество копий всего пула мтДНК либо мтДНК определенного гаплотипа в общем пуле за счет элиминации молекул, в которые был внесен двухцепочечный разрыв. Помимо того что само по себе уменьшение копийности мтДНК также может иметь патологические последствия [66], сложно назвать такую манипуляцию истинным редактированием митохондриального гено-

ма. Во многом остаются открытыми вопросы о приоре репарации двухцепочечных разрывов в мтДНК [67]. Существуют также доказательства того, что двухцепочечные разрывы губительны для митохондрий, поскольку приводят к элиминации разорванных молекул ферментами репликативной машины митохондрий [68, 69]. Тем не менее существует множество мутаций в состоянии гомоплазмы, если предполагать использование системы редактирования как инструмента генной терапии, а также различные сайты в мтДНК, функционирование которых возможно раскрыть, лишь изменив их нуклеотидную последовательность. Для этого должны быть использованы системы, не привязанные к формированию двухцепочечных разрывов как промежуточного шага в ходе редактирования ДНК. В частности, это новейшие системы редактирования оснований BE4-GAM [70] и ABE 7.10 [71]. Так, конструкция BE4-GAM позволяет исправить мутацию C:G на T:A, тогда как конструкция ABE 7.10 дает возможность исправлять более частные замены A:T на G:C. Основным ограничением использования данных систем, на наш взгляд, является отсутствие точности в исправлении мутации — редактирование основания ДНК происходит в некотором «окне» узнающей последовательности [72]. Описанные системы построены на нуклеазе SpCas9, что накладывает ограничение на выбор редактируемой мутации относительно PAM последовательности. С другой стороны, известны как другие нуклеазы, которые можно было использовать вместо SpCas9 [73], так и технологии изменения узнавания PAM сайта [74, 75]. Все это оставляет надежду на то, что в не столь отдаленной перспективе подобные технологии, направленные на исправление мутаций в мтДНК, найдут свое применение в реальной медицинской практике, как и редактирование ядерной ДНК [76].

Другим способом коррекции митохондриальной недостаточности являются методы современной биомедицины, направленные на коррекцию физиологических процессов в клетке и нормализацию электрон-транспортной функции дыхательной цепи в митохондриях в условиях гипоксии. Однако перед исследователями и клиницистами встали вопросы продолжительности заместительного эффекта энерготропных метаболитов при терапии митохондриальных болезней и сложности проникновения тех или иных органических молекул внутрь митохондрий. Работы М.Н. Кондрашовой и соавт. доказали, что терапевтический эффект янтарной кислоты основан не на заместительном, а на сигнальном принципе [77, 78]. Иными словами, янтарная кислота обладает свойствами сигнальной молекулы, запускающей важнейшие биохимические механизмы адаптации организма при воздействии экстремальных факторов среды. Кроме того, доказана возможность введения тех или иных молекул в митохондрии благодаря открытию большого и сложного комплекса транспортных систем, обслуживающих эти органеллы [78].

В связи с этим большой интерес представляет отечественный препарат цитофлавин. Он относится к группе комбинированных субстратных антигипоксантов. Так, в его состав входят естественный метаболит — янтарная кислота, никотинамид, рибофлавин и инозин. Цитофлавин оказывает антигипоксическое и антиоксидантное действие. Важной особенностью данной комбинации является наличие в ней N-метилглюкамина, выполняющего роль своеобразного транспортера янтарной кислоты в клетки. Таким образом, для получения эффекта достаточно назначать микродозы препарата (5–10 мг/кг/сут) [79].

В настоящее время в многочисленных исследованиях было продемонстрировано, что цитофлавин является эффективным компонентом для улучшения зрительных функций и функции нервной системы при самых разных заболеваниях, в основе которых лежит повреждение нервных клеток [80–84]. Его действие было изучено и в отношении ПОУГ [85, 86]. В работах исследователей было показано, что цитофлавин способствует метаболической адаптации нейронов (ишемическому прекодиционированию) и стабилизации глаукомной оптико-нейропатии, обеспечивая структурно-функциональную целостность и выживаемость ганглиозных клеток сетчатки. Цитофлавин проявил себя как мощный антиоксидант и антигипоксант. На фоне применения цитофлавина у пациентов с ПОУГ достоверно уменьшалась выраженность оксидативного стресса, снижался плазменный уровень продуктов перекисного окисления липидов, а также повышалась антиоксидантная активность крови у пациентов с ПОУГ [86].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты работ, обобщенных в данном обзоре, еще больше подтверждают важную роль митохондриальной дисфункции в развитии дегенерации зрительного нерва при глаукомной оптической нейропатии. Однако определенных патогенных мутаций мтДНК так и не было найдено. Вероятно, обнаруженные в каждом из исследований мутации мтДНК являются гаплогрупп-специфическими вариантами и характерны для конкретных популяций

человека. В этом контексте исследование мтДНК жителей России представляет интерес для понимания структуры митохондриального генофонда страны и его связи с клиническим проявлением определенных заболеваний, в частности, глаукомной оптической нейропатии. Поиск новых мутаций мтДНК даст возможность определить дальнейшую тактику в коррекции необратимой нейродегенерации при глаукомной оптической нейропатии. Генная терапия, в свою очередь, меняет практику классической клинической медицины на практику молекулярной медицины, делая лечение заболевания более персонализированным, эффективным и безопасным.

Многообразие потенциальных патологических нарушений клеточного энергообмена при ишемических гипоксических состояниях (повреждения различных звеньев цикла Кребса, дыхательной цепи, бета-окисления и др.), отсутствие возможности выявить конкретное точечное повреждение митохондрий свидетельствует о необходимости научно-прикладных разработок, направленных на создание современных принципов энерготропного лечения (по отработке состава энерготропных комплексов, тщательному подбору доз активных веществ, определению оптимальных схем лечения, в том числе с учетом хронобиологических ритмов) и делает актуальным внедрение в широкую клиническую практику комплексов энерготропных препаратов, обладающих способностью воздействовать сразу на несколько ключевых этапов клеточного энергообмена. Однако при каждой нозологической форме должны разрабатываться свои специализированные комплексы, включающие патогенетически наиболее значимые компоненты клеточного энергообмена. Одним из таких потенциальных препаратов комплексного действия для лечения ПОУГ может являться цитофлавин.

УЧАСТИЕ АВТОРОВ:

Газизова И.Р. — научная концепция и дизайн, написание текста;
Мазунин И.О. — написание текста, научное редактирование;
Малишевская Т.Н. — написание текста;
Киселева О.А. — научное редактирование;
Гаджиев А.М. — оформление библиографии;
Ринджибал Ал-М. — оформление библиографии.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Quigley H.A., Broman A.T. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. *Br J Ophthalmol.* 2006;90(3):262–267. DOI: 10.1136/bjo.2005.081224
2. Tham Y.C., Li X., Wong T.Y., Quigley H.A., Aung T., Cheng C.Y. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmol.* 2014;121:2081–2090. DOI: 10.1016/j.ophtha.2014.05.013
3. Sharif N.A. Glaucomatous optic neuropathy treatment options: the promise of novel therapeutics, techniques and tools to help preserve vision. *Neural Regen Res.* 2018;13(7):1145–1150. DOI: 10.4103/1673-5374.235017
4. Inman D.M., Harun-Or-Rashid M. Metabolic Vulnerability in the Neurodegenerative Disease Glaucoma. *Front Neurosci.* 2017;11:146. Published 2017 Mar 30. DOI: 10.3389/fnins.2017.00146
5. Calkins D.J., Horner P.J. The cell and molecular biology of glaucoma: axonopathy and the brain. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012;53(5):2482–2484. DOI: 10.1167/iovs.12-9483i
6. Casson R.J., Chidlow G., Wood J.P., Crowston J.G., Goldberg I. Definition of glaucoma: clinical and experimental concepts. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2012;40:341–349. DOI: 10.1111/j.1442-9071.2012.02773.x
7. Авдеев, Р.В., Александров, А.С., Бакунина, Н.А., Басинский и др. Модель первичной открытоугольной глаукомы: манифестирование и исходы. *Клиническая медицина.* 2014;12:64–72. [Avdeev A.V., Alexandrov A.S., Bakunina N.A., Basinsky A.S. et al. A model of primary open-angle glaucoma: manifestations and outcomes. *Clinical medicine = Klinicheskaya medicina.* 2014;12:64–72 (In Russ.)]
8. Kong Y.X., Coote M.A., O'Neill E.C., Gurria L.U., Vie J., Garway-Heath D., Medeiros F.A., Crowston J.G. Glaucomatous optic neuropathy evaluation project: a standardized internet system for assessing skills in optic disc examination. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2011;39:308–317. DOI: 10.1111/j.1442-9071.2010.02462.x
9. Osborne N.N., Núñez-Álvarez C., Joglar B., et al. Glaucoma: Focus on mitochondria in relation to pathogenesis and neuroprotection. *Eur J Pharmacol.* 2016;Sep;15(787):127–133. DOI: 10.1016/j.ejphar.2016.04.032
10. Yang X.J., Ge J., Zhuo Y.H. Role of mitochondria in the pathogenesis and treatment of glaucoma. *Chin Med J (Engl).* 2013;126(22):4358–4365.
11. Kamel K., Farrell M., O'Brien C. Mitochondrial dysfunction in ocular disease: Focus on glaucoma. *Mitochondrion.* 2017;35:44–53. DOI: 10.1016/j.mito.2017.05.004
12. Munemasa Y., Kitaoka Y., Kuribayashi J., Ueno S. Modulation of mitochondria in the axon and soma of retinal ganglion cells in a rat glaucoma model. *J Neurochem.* 2010;115:1508–1519. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2010.07057.x
13. Ju W., Liu Q., Kim K., Crowston J.G., Linsey J.D., Agarwal N., Ellisman M.H., Perkins G. A., Weinreb R.N. Elevated hydrostatic pressure triggers mitochondrial fission and decreases cellular ATP in differentiated RGC-5 cells. *Invest Ophthalmol & Visual Science.* 2007;48:2145–2151. DOI: 10.1167/iovs.06-0573

14. Barron M.J., Griffiths P., Turnbull D.M., Bates D., Nichols P. The distributions of mitochondria and sodium channels reflect the specific energy requirements and conduction properties of the human optic nerve head. *Br J Ophthalmol.* 2004;88(2):286–290. DOI: 10.1136/bjo.2003.027664
15. Izzotti A., Sacca S.C., Longobardi M., Cartiglia C. Mitochondrial damage in the trabecular meshwork of patients with glaucoma. *Archives of Ophthalmology.* 2010;128:724–730. DOI: 10.1001/archophthol.2010.87
16. Alekseev V., Gazizova I. Morphological changes in the mitochondria of cells of trabecular zone in patients with primary open-angle glaucoma. 10th European Glaucoma Society Congress Copenhagen. (Accessed 09.04.2019).
17. Harun-Or-Rashid M., Pappenhagen N., Palmer P.G., Smith M.A., Gevorgyan V. Structural and Functional Rescue of Chronic Metabolically Stressed Optic Nerves through Respiration. *The Journal of Neuroscience.* 2018;38(22):5122–5139. DOI: 10.1523/jneurosci.3652-17.2018
18. DiMauro S., Schon E., Carelli V., Hirano M. The clinical maze of mitochondrial neurology. *Nature Reviews Neurology.* 2013;9(8):429–444. DOI: 10.1038/nrneur.2013.126
19. Joseph J., Denisova N., Bielinski D., Fisher D., Shukitt-Hale B. Oxidative stress protection and vulnerability in aging: putative nutritional implications for intervention. *Mech Ageing Dev.* 2000;116(2–3):141–153. DOI: 10.1016/s0047-6374(00)00128-7
20. Olanow C. An introduction to the free radical hypothesis in Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 1992;32(S1):S2–S9. DOI: 10.1002/ana.410320703
21. Chrysostomou V., Rezanía F., Trounce I., Crowton J. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in glaucoma. *Curr Opin Pharmacol.* 2013;13(1):12–15. DOI: 10.1016/j.coph.2012.09.008
22. Ito Y., Di Polo A. Mitochondrial dynamics, transport, and quality control: A bottleneck for retinal ganglion cell viability in optic neuropathies. *Mitochondrion.* 2017;36:186–192. DOI: 10.1016/j.mito.2017.08.014
23. Cordeiro M.F., Normando E.M., Cardoso M.J., Miodragovic S., Jeylani S., Davis B.M., Guo L., Ourselin S., A'hern R., Bloom P.A. Real-time imaging of single neuronal cell apoptosis in patients with glaucoma. *Brain.* 2017;140(6):1757–1767. DOI: 10.1093/brain/awx088
24. Lascaratos G., Garway-Heath D., Willoughby C., Chau K., Schapira A. Mitochondrial dysfunction in glaucoma: Understanding genetic influences. *Mitochondrion.* 2012;12(2):202–212. DOI: 10.1016/j.mito.2011.11.004
25. Sacà S., Izzotti A., Rossi P., Traverso C. Glaucomatous outflow pathway and oxidative stress. *Exp Eye Res.* 2007;84(3):389–399. DOI: 10.1016/j.exer.2006.10.008
26. Cooper J., Mann V., Schapira A. Analyses of mitochondrial respiratory chain function and mitochondrial DNA deletion in human skeletal muscle: Effect of ageing. *J Neural Sci.* 1992;113(1):91–98. DOI: 10.1016/0022-510X(92)90270-U
27. Ojaimi J., Masters C., Opeskin K., McKelvie P., Byrne E. Mitochondrial respiratory chain activity in the human brain as a function of age. *Mech Ageing Dev.* 1999;111(1):39–47. DOI: 10.1016/S0047-6374(99)00071-8
28. Boveris A., Navarro A. Brain mitochondrial dysfunction in aging. *IUBMB Life.* 2008;60(5):308–314. DOI: 10.1002/iub.46
29. Navarro A., Boveris A. The mitochondrial energy transduction system and the aging process. *American Journal of Physiology-Cell Physiology.* 2007;292(2):C670–C686. DOI: 10.1152/ajpcell.00213.2006
30. Calandrella N., Scarsella G., Pescosolido N., Risuleo G. Degenerative and apoptotic events at retinal and optic nerve level after experimental induction of ocular hypertension. *Mol Cell Biochem.* 2007;301(1–2):155–163. DOI: 10.1007/s11010-006-9407-0
31. Мазунин И.О., Володько Н.В. Наследственная оптическая нейропатия Лебера. *Вестник офтальмологии.* 2018;134(2):92. [Mazunin I.O., Volodko N.V. Leber hereditary optic neuropathy]. *Annals of Ophthalmology = Vestnik oftalmologii.* 2018;134(2):92 (In Russ.). DOI: 10.17116/oftalma2018134292-96
32. Kasahara A., Scorrano L. Mitochondria: from cell death executioners to regulators of cell differentiation. *Trends Cell Biol.* 2014;24(12):761–770. DOI: 10.1016/j.tcb.2014.08.005
33. Chen M., Liu B., Ma J., Ge J., Wang K. Protective effect of mitochondria-targeted peptide MTP-131 against oxidative stress-induced apoptosis in RGC-5 cells. *Mol Med Rep.* 2017;15(4):2179–2185. DOI: 10.3892/mmr.2017.6271
34. Lv B., Chen T., Xu Z., Huo F., Wei Y., Yang X. Crocin protects retinal ganglion cells against H2O2-induced damage through the mitochondrial pathway and activation of NF-κB. *Int J Mol Med.* 2015;37(1):225–232. DOI: 10.3892/ijmm.2015.2418
35. Ju W.K., Kim K.Y., Lindsey J.D., Angert M., Patel A., Scott R.T., Liu Q., Crowston J.G., Ellisman M.H., Perkins G.A., Weinreb R.N. Elevated hydrostatic pressure triggers release of OPA1 and cytochrome C, and induces apoptotic cell death in differentiated RGC-5 cells. *Mol Vis.* 2009;15:120–134.
36. Mazunin I., Volodko N., Starikovskaya E., Sukernik R. Mitochondrial genome and human mitochondrial diseases. *Mol Biol (NY).* 2010;44(5):665–681. DOI: 10.1134/s0026893310050018
37. Patrushev M., Kamenski P., Mazunin I. Mutations in mitochondrial DNA and approaches for their correction. *Biochemistry (Moscow).* 2014;79(11):1151–1160. DOI: 10.1134/S0006297914110029
38. Torroni A., Achilli A., Macaulay V., Richards M., Bandelt H. Harvesting the fruit of the human mtDNA tree. *Trends in Genetics.* 2006;22(6):339–345. DOI: 10.1016/j.tig.2006.04.001
39. Wallace D. Mitochondrial genetic medicine. *Nat Genet.* 2018;50(12):1642–1649. DOI: 10.1038/s41588-018-0264-z
40. Latorre-Pellicer A., Moreno-Loshuertos R., Lechuga-Vieco A.V., Sánchez-Cabo F., Torroja C., Acín-Pérez R., Calvo E., Aix E., González-Guerra A., Logan A., Bernadina M.L., Romanos E., Cruz R., Cogliati S., Sobrino B., Carracedo A., Pérez-Martos A., Fernández-Silva P., Ruiz-Cabello J., Murphy M.P., Flores I., Vázquez J., Enríquez J.A. Mitochondrial and nuclear DNA matching shapes metabolism and healthy ageing. *Nature.* 2016;535(7613):561–565. DOI: 10.1038/nature18618
41. Morava E., Kozicz T., Wallace D. The phenotype modifier: is the mitochondrial DNA background responsible for individual differences in disease severity. *J Inherit Metab Dis.* 2019;42(1):3–4. DOI: 10.1002/jimd.12050
42. Abu-Amero K., Morales J., Bosley T. Mitochondrial Abnormalities in Patients with Primary Open-Angle Glaucoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* 2006;47(6):2533. DOI: 10.1167/iov.05-1639
43. Banerjee D., Banerjee A., Mookherjee S., Vishal M., Mukhopadhyay A., Sen A., Basu A., Ray K. Mitochondrial Genome Analysis of Primary Open Angle Glaucoma Patients. *PLoS ONE.* 2013;8(8):e70760. DOI: 10.1371/journal.pone.0070760
44. Collins D.W., Gudiseva H.V., Trachtman B.T., Jerrehian M., Gorry T., Merritt III W.T., Rhodes A.L., Sankar P.S., Regina M., Miller-Ellis E., O'Brien J.M. Mitochondrial Sequence Variation in African-American Primary Open-Angle Glaucoma Patients. *PLoS ONE.* 2013;8(10):e76627. DOI: 10.1371/journal.pone.0076627
45. Jeoung J., Seong M., Park S., Kim D., Kim S., Park K. Mitochondrial DNA Variant Discovery in Normal-Tension Glaucoma Patients by Next-Generation Sequencing. *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* 2014;55(2):986. DOI: 10.1167/iov.13-12968
46. Sundaresan P., Simpson D., Sambare C., Duffy S., Lechner J., Dastane A., Dervan E.W., Vallabh N., Chelkerkar V., Deshpande M., O'Brien C., McKnight A.J., Willoughby C.E. Whole-mitochondrial genome sequencing in primary open-angle glaucoma using massively parallel sequencing identifies novel and known pathogenic variants. *Genetics in Medicine.* 2014;17(4):279–284. DOI: 10.1038/gim.2014.121
47. Yi Q., Deng G., Zhou H., Wu G., Tang L. Mitochondrial transfer RNA variants and primary congenital glaucoma. *Mitochondrial DNA.* 2015;1–3. DOI: 10.3109/19401736.2015.1028050
48. Inoue-Yanagimachi M., Himori N., Sato K., Kokubun T., Asano T., Shiga Y., Tsuda S., Kunikata H., Nakazawa T. Association between mitochondrial DNA damage and ocular blood flow in patients with glaucoma. *British Journal of Ophthalmology.* 2018;bjophthalmol-2018-312356. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2018-312356
49. Singh L.N., Crowston J.G., Lopez Sanchez M.L., Van Bergen N.J., Kearns L.S., Hewitt A.W., Yazar S., Mackey D.A., Wallace D.C., Trounce I.A. Mitochondrial DNA Variation and Disease Susceptibility in Primary Open-Angle Glaucoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* 2018;59(11):4598. DOI: 10.1167/iov.18-25085
50. Gudiseva H., Pistilli M., Salowe R., Singh L.N., Collins D.W., Cole B., He J., Merriam S., Khachatryan N., Henderer J., Addis V., Cui Q.N., Sankar P.V., Miller-Ellis E., Chavali V.R., Ying G.S., Wallace D., O'Brien J.M. The association of mitochondrial DNA haplogroups with POAG in African Americans. *Exp Eye Res.* 2019;181:85–89. DOI: 10.1016/j.exer.2019.01.015
51. Gorman G., McFarland R., Stewart J., Feeney C., Turnbull D. Mitochondrial donation: from test tube to clinic. *The Lancet.* 2018;392(10154):1191–1192. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)31868-3
52. Eyre-Walker A. Mitochondrial Replacement Therapy: Are Mito-nuclear Interactions Likely To Be a Problem? *Genetics.* 2017;205(4):1365–1372. DOI: 10.1534/genetics.116.196436
53. Labarta E., de los Santos M.J., Herraiz S., Escribá M.J., Marzal A., Buigues A., Pellicer A. Autologous mitochondrial transfer as a complementary technique to intracytoplasmic sperm injection to improve embryo quality in patients undergoing in vitro fertilization — a randomized pilot study. *Fertil Steril.* 2019;111(1):86–96. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2018.09.023
54. Bacman S., Pereira C., Moraes C. Targeted Mitochondrial Genome Elimination. *Mitochondrial Biology and Experimental Therapeutics.* 2018:535–563. DOI: 10.1007/978-3-319-73344-9_24
55. Reddy P., Ocampo A., Suzuki K., Luo J., Bacman S.R., Williams S.L., Sugawara A., Okamura D., Tsunekawa Y., Wu J., Lam D., Xiong X., Montserrat N., Esteban C.R., Liu G.H., Sancho-Martinez I., Manau D., Civico S., Cardellach F., O'Callaghan M., Campistol J., Zhao H., Campistol J.M., Moraes C.T., Belmonte J. Selective Elimination of Mitochondrial Mutations in the Germline by Genome Editing. *Cell.* 2015;161(3):459–469. DOI: 10.1016/j.cell.2015.03.051
56. Yang Y., Wu H., Kang X., Liang Y., Lan T., Li T., Tan T., Peng J., Zhang Q., An G., Liu Y., Yu Q., Ma Z., Lian Y., Soh B.S. Targeted elimination of mutant mitochondrial DNA in MELAS-iPSCs by mitoTALENs. *Protein Cell.* 2018;9(3):283–297. DOI: 10.1007/s13238-017-0499-y
57. McCann B., Cox A., Gammage P., Stewart J., Zernicka-Goetz M., Minczuk M. Delivery of mtZFNs into Early Mouse Embryos. *Methods in Molecular Biology.* 2018:215–228. DOI: 10.1007/978-1-4939-8799-3_16
58. Bacman S.R., Kauppila J.H., Pereira C.V., Nissanka N., Miranda M., Pinto M., Williams S.L., Larsson N.G., Stewart J.B., Moraes C.T. MitoTALEN reduces mutant mtDNA load and restores tRNAAla levels in a mouse model of heteroplasmic mtDNA mutation. *Nat Med.* 2018;24(11):1696–1700. DOI: 10.1038/s41591-018-0166-8
59. Gammage P.A., Viscomi C., Simard M.L., Costa A.S., Gaude E., Powell C.A., Haute L.V., McCann B.J., Rebelo-Guiomar P., Cerutti R., Zhang L., Rebar E.J., Zeviani M., Frezza C., Stewart J.B., Minczuk M. Genome editing in mitochondria corrects a pathogenic mtDNA mutation in vivo. *Nat Med.* 2018;24(11):1691–1695. DOI: 10.1038/s41591-018-0165-9
60. Jinek M., Chylinski K., Fonfara I., Hauer M., Doudna J., Charpentier E. A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity. *Science.* 2012;337(6096):816–821. DOI: 10.1126/science.1225829
61. Gammage P., Moraes C., Minczuk M. Mitochondrial Genome Engineering: The Revolution May Not Be CRISPR-ized. *Trends in Genetics.* 2018;34(2):101–110. DOI: 10.1016/j.tig.2017.11.001
62. Jo A., Ham S., Lee G., Lee Y., Kim S., Lee Y., Shin J., Le Y. Efficient Mitochondrial Genome Editing by CRISPR/Cas9. *Biomed Res Int.* 2015;2015:1–10. DOI: 10.1155/2015/305716

63. Loutre R., Heckel A., Smirnova A., Entelis N., Tarassov I. Can Mitochondrial DNA be CRISPRized: Pro and Contra. *IUBMB Life*. 2018;70(12):1233–1239. DOI: 10.1002/iub.1919
64. Verechshagina N., Nikitchina N., Yamada Y., Harashima H., Tanaka M., Orishchenko K., Mazunin I. Future of human mitochondrial DNA editing technologies. *Mitochondrial DNA Part A*. 2018;30(2):214–221. DOI: 10.1080/24701394.2018.1472773
65. Bian W., Chen Y., Luo J., Wang C., Xie S., Pei D. A knock-in strategy for editing human and zebrafish mitochondrial DNA using mito-CRISPR/Cas9 system. *ACS Synth Biol*. 2019. DOI: 10.1021/acssynbio.8b00411
66. Clay Montier L., Deng J., Bai Y. Number matters: control of mammalian mitochondrial DNA copy number. *Journal of Genetics and Genomics*. 2009;36(3):125–131. DOI: 10.1016/s1673-8527(08)60099-5
67. Nissanka N., Minczuk M., Moraes C. Mechanisms of Mitochondrial DNA Deletion Formation. *Trends in Genetics*. 2019;35(3):235–244. DOI: 10.1016/j.tig.2019.01.001
68. Nissanka N., Bacman S., Plastini M., Moraes C. The mitochondrial DNA polymerase gamma degrades linear DNA fragments precluding the formation of deletions. *Nat Commun*. 2018;9(1). DOI: 10.1038/s41467-018-04895-1
69. Peeva V., Blei D., Trombly G., Corsi S., Szuksztz M.J., Rebelo-Guiomar P., Gammage P.A., Kudin A.P., Becker C., Altmüller J., Minczuk M., Zsurska G., Kunz W.S. Linear mitochondrial DNA is rapidly degraded by components of the replication machinery. *Nat Commun*. 2018;9(1). DOI: 10.1038/s41467-018-04131-w
70. Komor A.C., Zhao K.T., Packer M.S., Gaudelli N.M., Waterbury A.L., Koblan L.W., Kim Y.B., Badran A.H., Liu D.R. Improved base excision repair inhibition and bacteriophage Mu Gam protein yields C-G-to-T-A base editors with higher efficiency and product purity. *Sci Adv*. 2017;3(8):eaao4774. DOI: 10.1126/sciadv.aao4774
71. Gaudelli N.M., Komor A.C., Rees H.A., Packer M.S., Badran A.H., Bryson D.L., Liu D.R. Programmable base editing of A•T to G•C in genomic DNA without DNA cleavage. *Nature*. 2017;551(7681):464–471. DOI: 10.1038/nature24644
72. Rees H., Liu D. Base editing: precision chemistry on the genome and transcriptome of living cells. *Nature Reviews Genetics*. 2018;19(12):770–788. DOI: 10.1038/s41576-018-0059-1
73. Komor A., Badran A., Liu D. CRISPR-Based Technologies for the Manipulation of Eukaryotic Genomes. *Cell*. 2017;168(1–2):20–36. DOI: 10.1016/j.cell.2016.10.044
74. Kleinstiver B.P., Prew M.S., Tsai S.Q., Topkar V.V., Nguyen N.T., Zheng Z., Gonzales A., Li Z., Peterson R.T., Yeh J.R., Aryee M.J., Joung J.K. Engineered CRISPR-Cas9 nucleases with altered PAM specificities. *Nature*. 2015;523(7561):481–485. DOI: 10.1038/nature14592
75. Kleinstiver B.P., Prew M.S., Tsai S.Q., Nguyen N.T., Topkar V.V., Zheng Z., Joung J.K. Broadening the targeting range of Staphylococcus aureus CRISPR-Cas9 by modifying PAM recognition. *Nat Biotechnol*. 2015;33(12):1293–1298. DOI: 10.1038/nbt.3404
76. Porteus M. A New Class of Medicines through DNA Editing. *New England Journal of Medicine*. 2019;380(10):947–959. DOI: 10.1056/nejmra1800729
77. Zarubina T.V., Lukk M.V. Antihypoxic and antioxidant effects of exogenous succinic acid and aminothiolsuccinate-containing antihypoxants. *Bull Exp Biol Med*. 2012;153(3):336–339. DOI: 10.1007/s10517-012-1709-5
78. Кондрашова М.Н., Хундерякова Н.В., Захарченко М.В. Оригинальный цитобимический метод выявления индивидуальных различий физиологического состояния организма по комплексной характеристике (Паттерну) активности сукцинатдегидрогеназы. *Medline.ru Биомедицинский журнал*. 2009;10:27–43. [Kondrashova M.N., Hunderlyakova N.V., Zakharchenko M.V. An original cytochemical method for identifying individual differences in the physiological state of an organism according to the complex characteristic (Pattern) of succinate dehydrogenase activity. *Medline.ru Biomeditsinskii zhurnal*. 2009;10:27–43 (In Russ.)]
79. Михин В.П. Цитопротекция в кардиологии: достигнутые успехи и перспективы. *Архивъ внутренней медицины*. 2014;1:44–49. [Mikhin V.P. Cytoprotection in cardiology: achieved successes and outlooks. *The Russian Archives of internal medicine = Arkhiv vnutrennei meditsiny*. 2014;1:44–49 (In Russ.)]
80. Федин А.И. Оксидантный стресс и применение антиоксидантов в неврологии. *Нервные болезни*. 2002;1:15–18. [Fedin A.I. Oxidative stress and the use of antioxidants in neurology. *Neurology = Nervnye bolezni*. 2002;1:15–18 (In Russ.)]
81. Yellow D.M., Hausenloy D.J. Myocardial reperfusion injury. *N Engl J Med*. 2007;357(11):1121–1135. DOI: 10.1056/NEJMr071667
82. Измайлова Т., Федорова Н., Петричук С., Басаргина Е. Митохондриальные нарушения у детей с хронической сердечной недостаточностью: эффекты цитофлавина. *Российский педиатрический журнал*. 2012;4(4):21–22. [Izmailova T., Fedorova N., Petrichuk S., Basargina E. Mitochondrial disorders in children with chronic heart failure: effects of cytoflavin. *Russian pediatric journal = Rossiiskii pediatricheskii zhurnal*. 2012;4(4):21–22 (In Russ.)]
83. Почепень О. Оценка эффективности цитофлавина при лечении токсико-гипоксической энцефалопатии после тяжелой травмы. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова*. 2010;10:23–29. [Pochepen' O. Evaluation of the effectiveness of cytoflavin in the treatment of toxic-hypoxic encephalopathy after a severe injury. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry = Zhurnal neurologii i psikhiiatrii imeni S.S. Korsakova = Nevrologiya i psikhiiatriya*. 2010;10:23–29. (In Russ.)]
84. Газизова И.Р., Тихомирова И.Ю. Роль митохондриальной дисфункции при глаукоме. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2015;10(2):153–156. [Gazizova I.R., Tikhomirova I.Yu. The role of mitochondrial dysfunction in glaucoma. *Bashkortostan Medical Journal = Meditsinskii vestnik Bashkortostana*. 2015;10(2):153–156 (In Russ.)]
85. Гусев А.Н., Красногорская В.Н., Сорокина Е.В., Гусева Е.В. Результаты лечения глаукомной оптической нейропатии с использованием препаратов Цитофлавин и Комбилипен. *Современные технологии в офтальмологии*. 2015;2:154–155. [Gusev A.N., Krasnogorskaya V.N., Sorokina E.V., Guseva E.V. The results of the treatment of glaucoma optic neuropathy using the drugs Cytoflavin and Combilipen. *Modern technologies in ophthalmology = Sovremennyye tekhnologii v oftalmologii*. 2015;2:154–155 (In Russ.)]
86. Малишевская Т.Н., Юсупов А.Р., Шатских С.В., Филиппова Ю.Е., Антипина Н.А., Клиндюк Т.С., Богданова Д.С., Кондратьева Л.А. Исследование эффективности и безопасности применения препарата Цитофлавин у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой. *Вестник офтальмологии*. 2019;135(2):83–92. [Malishevskaya T.N., Yusupov A.R., Shatskikh S.V., Filippova Yu.E., Antipina N.A., Klindyuk T.S., Bogdanova D.S., Kondrateva L.A. Study of the efficacy and safety of the use of the drug Cytoflavin in patients with primary open-angle glaucoma. *Annals of Ophthalmology = Vestnik oftalmologii*. 2019;135(2):83–92 (In Russ.)]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»
Газизова Ильмира Рифовна
доктор медицинских наук, врач-офтальмолог
ул. Академика Павлова, 12, Санкт-Петербург, 197376, Российская Федерация

Центр геномных исследований, Балтийский федеральный университет им. И. Канта
Мазунин Илья Олегович
кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией молекулярно-генетических технологий
ул. А. Невского, 14, Калининград, 236016, Российская Федерация

Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней Гельмгольца
Малишевская Татьяна Николаевна
доктор медицинских наук, руководитель отделения аналитической работы
ул. Садовая-Черногрозская, 14/19, Москва, 105062, Российская Федерация

Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней Гельмгольца
Киселева Ольга Александровна
доктор медицинских наук, начальник отдела глаукомы
ул. Садовая-Черногрозская, 14/19, Москва, 105062, Российская Федерация

ГБУЗ «Всеволожская клиническая межрайонная больница»
Гаджиев Абдулла Магомедович
врач-офтальмолог
Колтушское шоссе, 20, Всеволожск, 188640, Российская Федерация

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»
Ринджибал Ал-Майсам
аспирант
ул. Академика Павлова, 12, Санкт-Петербург, 197376, Российская Федерация

ABOUT THE AUTHORS

Institute of Experimental Medicine
Gazizova Ilmira R.
MD, ophthalmologist
Akademika Pavlova str., 12, Saint Petersburg, 197376, Russian Federation

Center for Genomic Research, Immanuel Kant Baltic Federal University
Mazunin Ilya O.
PhD, head of laboratory of molecular genetic technologies
A. Nevskogo str., 14, Kaliningrad, 236016, Russian Federation

Helmholtz National medical center of Eye Diseases
Malishevskaya Tat'yana N.
MD, ophthalmologist, Head of Analytical Work
Sadovaya-Chernogryazskaya str., 14/19, Moscow, 105062, Russian Federation

Helmholtz National medical center of Eye Diseases
Kiseleva Olga A.
MD, Head of Glaucoma Department
Sadovaya-Chernogryazskaya str., 14/19, Moscow, 105062, Russian Federation

State institution of health care of Leningrad region “Vsevolzhsk clinical interdistrict hospital”
Gadzhiyev Abdulla M.
Ophthalmologist
Koltushskoe highway, 20, Vsevolzhsk, 188640, Russian Federation

Institute of Experimental Medicine
Rindzhibal Al-Maisam
postgraduate
Akademika Pavlova str., 12, Saint Petersburg, 197376, Russian Federation