

# Подходы к молекулярно-генетической диагностике глазных проявлений пролиферативного синдрома для патофизиологически направленного лечения

М.Е. Винер<sup>1</sup>, Н.А. Бакунина<sup>2,3</sup>, Ж.М. Салмаси<sup>4</sup>, Г.В. Порядин<sup>4</sup>, Д. Барх<sup>1</sup>,  
Ю.Д. Кузнецова<sup>2</sup>, Л.М. Балашова<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup>ООО «Офтальмик», Москва, Россия

<sup>2</sup>НП «МНПЦПТ», Москва, Россия

<sup>3</sup>ГКБ № 1 им. Н.И. Пирогова, Москва Россия

<sup>4</sup>РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

## РЕЗЮМЕ

**Введение:** неконтролируемая пролиферация клеток сосудистой сети органа зрения является одной из лидирующих причин слепоты и слабости зрения в мире. В представленной работе обобщаются данные актуальной мировой литературы и анализируется собственный опыт 5-летнего наблюдения пациентов с целью поиска способов лечения избыточной непродуктивной пролиферации.

**Цель исследования:** выявить генетические особенности у пациентов с пролиферацией клеток сосудистой сети органа зрения для прогнозирования течения заболевания и подбора наиболее адекватного лечения.

**Материал и методы:** из 1210 пациентов с признаками пролиферации органа зрения, ретинопатией недоношенных, сахарным диабетом были отобраны для дальнейшего анализа 86 пациентов. Они были распределены на 3 группы: 1-я — с моногенной патологией, 2-я — с пролиферативной витреоретинопатией, сахарным диабетом, 3-я — с ретинопатией недоношенных. Срок наблюдения за пациентами составил от 6 до 36 мес. Все пациенты прошли лабораторное, молекулярно-генетическое и расширенное релевантное клиническое обследование.

**Результаты исследования:** разработан проприетарный подход биоинформатического анализа данных полноэкзомного/полногеномного секвенирования, позволяющий уточнять прогноз течения и тяжести пролиферативного процесса с учетом клинических и генетических данных. В подход включен анализ наличия мутаций в генах, прямо или косвенно участвующих в процессе ангиогенеза, и основных сигнальных путей. Анализ результатов обнаруженных мутаций во 2-й группе пациентов выявил полиморфизм -509C>T в гене TGFBI у 2 пациентов и полиморфизм с.3174G>A в гене IGF1R у 3 пациентов. При аннотации генетических результатов у пациентов 3-й группы наиболее частыми были полиморфизмы +13553C>T, -634G>C, +405G>C (rs2010963), -460C>T (rs833061) в гене VEGFA.

**Заключение:** для уточнения прогноза хода течения и тяжести процесса у пациентов с пролиферативными изменениями органа зрения, а также патогенетически ориентированного таргетного лечения необходимо проведение специализированного молекулярно-генетического теста с применением усовершенствованного подхода к анализу полученных данных.

**Ключевые слова:** пролиферативный синдром, сахарный диабет, ретинопатия недоношенных, VEGFA, TGFBI, IGF1R, синдром Стиклера, синдром Вагнера, синдром Вольфрама, синдром Маршалла, болезнь Норри, болезнь Коатса, ретиношизис.

**Для цитирования:** Винер М.Е., Бакунина Н.А., Салмаси Ж.М. и др. Подходы к молекулярно-генетической диагностике глазных проявлений пролиферативного синдрома для патофизиологически направленного лечения. Клиническая офтальмология. 2022;22(1):16–22. DOI: 10.32364/2311-7729-2022-22-1-16-22.

## Genetic testing of ocular manifestations of proliferative syndrome to provide pathophysiology-oriented treatment

M.E. Weener<sup>1</sup>, N.A. Bakunina<sup>2,3</sup>, J.M. Salmasi<sup>4</sup>, G.V. Poryadin<sup>4</sup>, D. Barh<sup>1</sup>,  
Yu.D. Kuznetsova<sup>2</sup>, L.M. Balashova<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup>LLC "Oftalmic", Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup>Non-profit partnership "International Scientific and Practical Center for the Proliferation of Tissues of Russia", Moscow, Russian Federation

<sup>3</sup>N.I. Pirogov City Clinical Hospital No. 1, Moscow, Russian Federation

<sup>4</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

## ABSTRACT

**Background:** uncontrolled cell proliferation of the ocular blood network is one of the leading causes of blindness and low vision worldwide. We summarize relevant published data and our 5-year experience in searching treatment tools for excessive non-productive proliferation.

**Aim:** to describe genetic patterns in patients with ocular blood network proliferation for predicting disease course and selecting adequate treatment.

**Patients and Methods:** 1210 patients with proliferative ocular disorders, retinopathy of prematurity, and diabetes were enrolled. Patients were divided into three groups: (1) monogenic disorders, (2) proliferative vitreoretinopathy and diabetes mellitus, (3) retinopathy of prematurity. Follow-up was 6 to 36 months. Laboratory, genetic, and relevant clinical tests were pursued in all patients.

**Results:** proprietary approach of bioinformatic analysis of whole exome/whole genome sequencing data allows for specifying the proliferative process's prognosis and severity given clinical and genetic findings. This approach includes the analysis of gene mutations directly or indirectly involved in angiogenesis and key signaling pathways. The analysis of mutation identified in group 2 revealed 509C>T *TGFB1* gene polymorphism in two patients and c.3174G>A *IGF1R* gene polymorphism in three patients. In group 3, the most common *VEGFA* gene polymorphisms were +13553C>T, -634G>C, +405G>C (rs2010963), and -460C>T (rs833061).

**Conclusion:** specifying the prognosis of the course and severity of proliferative ocular disorders pathogenically-oriented targeted treatment requires specialized genetic testing using an improved data analysis approach.

**Keywords:** proliferative syndrome, diabetes, retinopathy of prematurity, *VEGFA*, *TGFB1*, *IGF1R*, Stickler syndrome, Wagner syndrome, Wolframe syndrome, Marshall syndrome, Norrie disease, Coats disease, retinoschisis.

**For citation:** Weener M.E., Bakunina N.A., Salmasi J.M. et al. Genetic testing of ocular manifestations of proliferative syndrome to provide pathophysiology-oriented treatment. *Russian Journal of Clinical Ophthalmology*. 2022;22(1):16–22 (in Russ.). DOI: 10.32364/2311-7729-2022-22-1-16-22.

## ВВЕДЕНИЕ

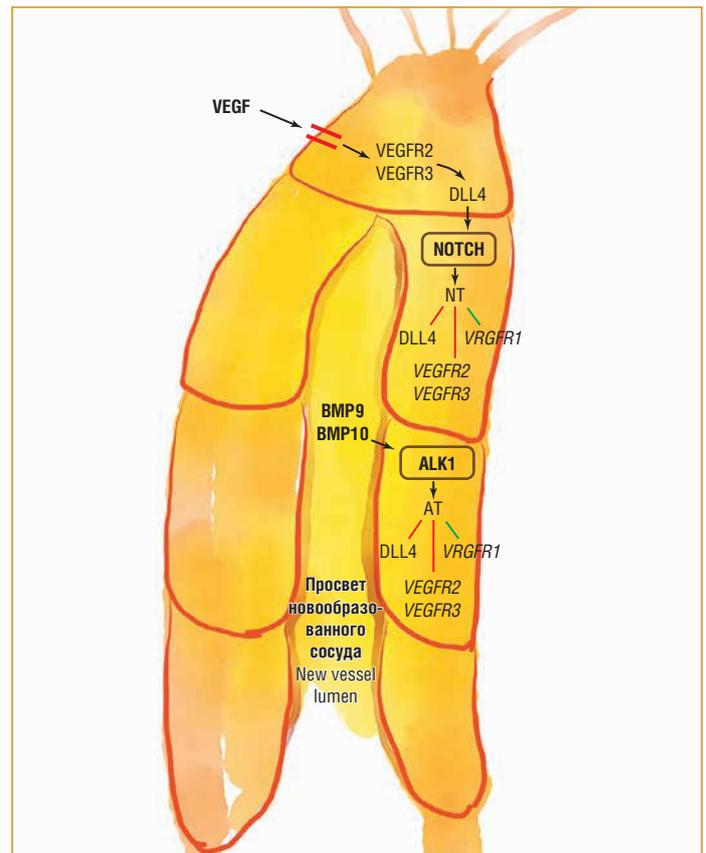
Неконтролируемая пролиферация клеток сосудистой сети органа зрения в ответ на выброс воспалительных факторов, несовершенство появляющихся сосудистых сетей и соединительнотканых структур относятся к числу ведущих причин слепоты в мире. Данная статья представляет собой обобщение актуальных данных литературы и анализ собственного опыта 5-летнего наблюдения пациентов с пролиферативным синдромом.

Определение будущего фенотипа концевых клеток в прорастающих эндотелиальных клетках опосредуется через сосудистый эндотелиальный фактор роста (Vascular endothelial growth factor, VEGF), индуцируя VEGFR2/3 и лиганд DLL4 (delta like 4) на растущем апексе новообразованного сосуда (рис. 1) [1]. Notch лиганд Delta like 4 (DLL4) является основным для фенотипа «окончания» и может рассматриваться как тумблер, который устанавливает состояние ветвления сосуда или его окончания. Он экспрессируется в состоянии наконечника, активируя Notch сигнальный путь в соседних клетках, где он подавляет транскрипцию DLL4. Активированный Notch действует через Notch-опосредованные факторы транскрипции (NT), подавляя DLL4 и VEGFR2/3 и индуцируя VEGFR1 [2, 3]. Это снижает чувствительность к VEGF и стабилизирует фенотип дальнейшего ветвления сосуда. Костные морфогенетические белки-активаторы 9 и 10 (Bone Morphogenetic Protein 9/10, BMP9/BMP10) в плазме действуют через киназный сигнальный путь анапластической лимфомы 1 (anaplastic lymphoma kinase 1, ALK1) на сходных нижестоящих мишенях (AT-опосредованно), так же как Notch, и дополнительно способствуют фенотипу ветвления [4].

Избыточное прорастание сосудов (рис. 2А) происходит, когда блокируется передача сигналов Notch или ALK1 (благоприятствуя фенотипу «наконечника»). Напротив, недостаточное прорастание сосудов (рис. 2С) может быть вызвано чрезмерной активацией BMP9. Он также обнаружен у людей с мутациями потери функции в винглесс-сигнальном пути (wingless signaling pathway, WNT signaling pathway) и с мутациями сигнального пути трансформирующего ростового фактора бета 1 (transforming growth factor  $\beta$ -1 signaling pathway, *TGFB1* signaling pathway).

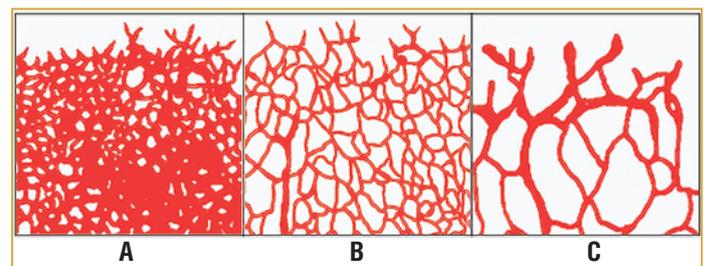
Существуют несколько физиологических механизмов пролиферации при синдромном или изолированном повреждении органа зрения. Наиболее перспективными с точки зрения поиска мишеней для разработки лечения являются:

1. VEGF и связанные с ним рецепторы VEGFA, модель является наиболее изученной, рецепторы VEGFR2 и опосредованный ими неангиогенез делают эту молекулу важной мишенью.



**Рис. 1.** Схематическое изображение двух основных видов сигнальных путей апикальной части новообразованного сосуда для продолжения или терминации роста сосуда

**Fig. 1.** Schematic representation of two major signaling pathways of the apical part of a new vessel (either to proceed or terminate vessel growth)

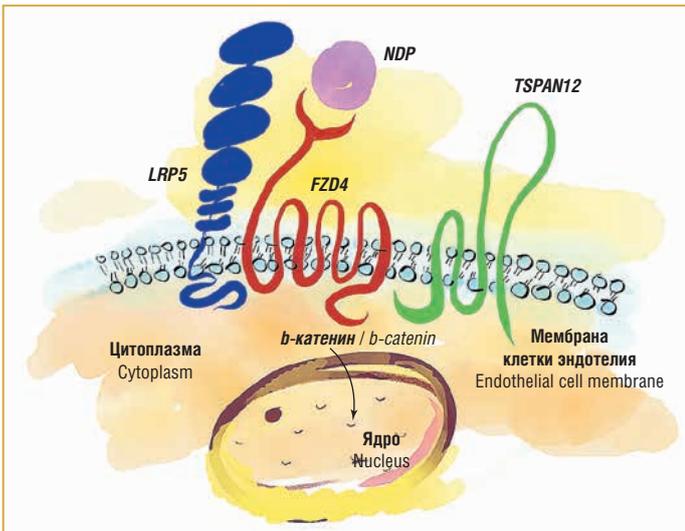


**Рис. 2.** Прорастание новообразованных сосудов

A — избыточное прорастание, B — нормальное прорастание, C — недостаточное прорастание.

**Fig. 2.** Vessel sprouting

A, excessive; B, normal; C, insufficient



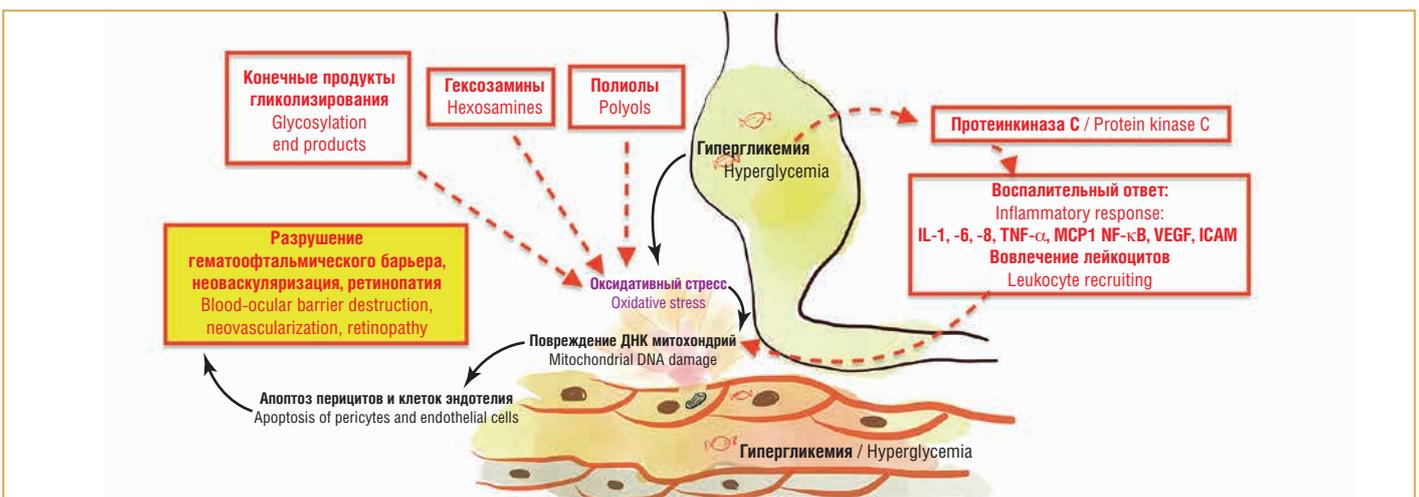
**Рис. 3.** Схематическое изображение механизма действия WNT- и Норрин-сигнальных путей, опосредованных рецепторами FZD4, LRP5 и тетраспанином (TSPAN12)

**Fig. 3.** Schematic representation of the mechanism of action of WNT and Norrin signaling pathways mediated by FZD4, LRP5, and tetraspanin (TSPAN12) receptors

- WNT- и норрин-сигнальные пути; трансмембранные белки FZD4, LRP5, TSPAN12, NDP при наличии мутаций в них приводят к развитию семейной экссудативной витреоретинопатии (Familial exudative vitreoretinopathy, FEVR) и болезни Норри (рис. 3), FZD4 участвует в формировании гематоофтальмического барьера [5, 6]. Каждый из этих белков является потенциальной терапевтической мишенью при наличии подтвержденного генетического отклонения в нем от нормы.
- Инсулиноподобный фактор роста 1 (insulin-like growth factor 1, IGF1R) способствует соматическому росту организма, при мутациях в гене *IGF1R* проявляется сахарный диабет (рис. 4).
- Эндотелиальная синтаза оксида азота (nitric oxide synthase, eNOS) является одним из ферментов, синтезирующихся при оксидативном стрессе, усиливает неоваскуляризацию и вазооблитерацию.

- Медиаторы воспаления и гены, связанные с воспалением (интерлейкины (interleukins, IL) -6, -7, -8, -10, -15, -1B, фактор некроза опухоли- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )), толл-подобные рецепторы 4 (toll-like receptors 4, TLR4), девиация которых наблюдается при ретинопатии недоношенных.
- Нейротрофический фактор мозга (brain derived neurotrophic factor, BDNF).
- Ренин-ангиотензиновая система связана с развитием сосудов сетчатки и почек и патологическим ангиогенезом. Мутации в генах ангиотензинпревращающего фермента (angiotensin converting enzyme, ACE), ангиотензиногена (AGT) и рецептора ангиотензиногена 1 типа (angiotensin II receptor type 1, AGTR1) могут быть причиной повышенной пролиферации.
- Ангиопоэтины ANG-1 и ANG-2 являются факторами роста, которые необходимы для развития сосудов сетчатки и стабилизации сосудов.
- Эритропоэтин, рецепторы эритропоэтина экспрессируются в сетчатке.
- Вызванный гипоксией фактор (Hypoxia-inducible Factor, HIF-1) регулирует транскрипцию генов *VEGF*, *VEGFR1*, тромбоцитарного фактора роста (Platelet-derived growth factor, PDGF), фактора стромальных клеток 1 (Stromal cell-derived factor-1, SDF-1) и ANG2, разрушение HIF-1 приводит к уменьшению уровня *VEGF*.
- Гемоксигеназа-1 (Heme Oxygenase 1, HMOX1) играет важную роль в воспалительных реакциях, окислительном стрессе, метаболизме железа и физиологии сосудов.
- Металлопротеиназы (a disintegrin and metalloproteinase domain 17, ADAM17). *ADAM17*-нокаутные мыши показали меньшую неоваскуляризацию при оксидативном стрессе.

Актуальным является создание удобного для практикующего врача подхода для оценки тяжести заболевания и прогноза у пациентов с пролиферативными изменениями органа зрения, подбора оптимальной терапевтической тактики и патогенетически ориентированного лечения в будущем. Для этого необходимо было разработать и применить



**Рис. 4.** Патофизиологические пути пролиферации при гипергликемии

**Fig. 4.** Pathophysiological pathways of proliferation in hyperglycemia

подход к анализу молекулярно-генетических данных на основании литературных и собственных данных.

**Цель исследования:** выявить генетические особенности у пациентов с пролиферацией клеток сосудистой сети органа зрения для прогнозирования течения заболевания и подбора наиболее адекватного лечения.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Из 1210 пациентов, направленных на клиническое и генетическое обследование, в том числе на дифференциальную диагностику с 2015 по 2020 г. в ООО «Офтальмик» с моногенной глазной патологией или с подозрением на таковую (с пролиферативным синдромом, центральными и периферическими дистрофиями сетчатки, ретинопатией недоношенных, сахарным диабетом и др.), в группу отбора для дальнейшего анализа вошли 86 пациентов с изолированными глазными и/или синдромными признаками пролиферации, которые были разделены на 3 группы:

1-я группа — пациенты с моногенной генетической патологией (21 человек (42 глаза), 14 — мужского пола, 7 — женского пола, возраст — от 4 мес. до 43 лет), по результатам клинического и генетического обследования которых молекулярный диагноз моногенного заболевания с пролиферативным компонентом был подтвержден;

2-я группа — пациенты с клиническим диагнозом «пролиферативная витреоретинопатия вследствие сахарного диабета» (36 человек (72 глаза), 16 — мужского пола, 20 — женского пола, возраст — от 11 до 56 лет);

3-я группа — пациенты с клиническим диагнозом «ретинопатия недоношенных» (29 человек (58 глаз), 10 — мужского пола, 19 — женского пола, возраст — от 3 мес. до 12 лет). Срок наблюдения за пациентами составил от 6 до 36 мес.

Применялись лабораторно-диагностическое оборудование для проведения общеклинических, биохимических анализов, высокопроизводительные серверы для обработки геномных данных и статистических расчетов. Проводились осмотр терапевтом, консультация генетика, сбор семейного анамнеза, анамнеза заболевания (с уточнением возраста его начала и скорости прогрессирования), физикальное обследование, измерение роста, массы тела, расчет индекса массы тела, определение типа телосложения. Сбор и фиксация семейного анамнеза проводились сертифицированным специалистом после прохождения обучения на основе образовательного курса <http://www.genome.gov> с помощью программных продуктов Microsoft Power Point, Corel Draw или Invitae family history tool.

Офтальмологический инструментальный осмотр включал следующие процедуры: визометрия, рефрактометрия, биомикроскопия, оптическая когерентная томография, периметрия, микропериметрия, пневмотонометрия, офтальмоскопия (с фотофиксацией, у пациентов до 1 года применение Retcam под общей анестезией), электроретинография, измерение зрительных вызванных потенциалов, темновая адаптометрия, аутофлуоресценция, флуоресцентная ангиография, проверка цветовосприятия по таблицам Рабкина и тесту Фарнсуорта/Хью).

Лабораторное обследование включало клинический анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови, анализ на метаболиты, в том числе на орнитин, микроэлементы, исключение наследственных болезней обмена.

Молекулярно-генетическое исследование включало полноэкзомное секвенирование WES (whole exome

sequencing) и NGS (next generation sequencing) панели, секвенирование отдельных генов проводилось путем забора 5 мл периферической венозной крови, выделения ДНК. Для подготовки библиотек применялись реагенты Nextera Rapid Capture Exome v1.2 (Illumina). Секвенс проводился на приборе Illumina NextSeq 500 со средним покрытием 70X. Большие хромосомные аномалии исключались с помощью хромосомного микроматричного анализа (ХМА; Affymetrix CytoScan HD array). Секвенирование по Сэнгеру проводили, чтобы подтвердить обнаруженные мутации. Также проводили анализ сегрегации для доступных членов семьи, следуя протоколу Malaichamy [7].

Биоинформатический анализ и аннотация вариантов выполнялись с использованием стандартных и проприетарных алгоритмов. GATK (Genome Analysis ToolKit) и пользовательские базы данных применялись для обнаружения как однонуклеотидных вариантов (single nucleotide variation, SNV), малых вставок/делеций, так и вариаций числа копийности (copy number variation, CNV). Эволюционную стабильность аминокислотных остатков определяли с помощью инструментов webPRANK, CDD/SPARCLE и MOTIF Search.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам молекулярно-генетического и клинического анализа у 21 пациента был подтвержден диагноз моногенного пролиферативного заболевания сетчатки (табл. 1). Согласно установленному диагнозу пациентам было проведено консультирование и даны реко-

**Таблица 1.** Распределение пациентов по нозологиям

**Table 1.** Patients distribution by nosologies

Диагноз Diagnosis	Количество пациентов Number of patients
Синдром Гольдмана — Фавре (синдром повышенного ответа колбочек) Enhanced S-Cone Syndrome (Goldmann - Favre syndrome)	3 (2 муж., 1 жен.) 3 (2 men, 1 woman)
Синдром Стиклера, тип 1-5 Stickler syndrome type 1-5	3 (1 муж., 2 жен.) 3 (1 man, 2 women)
Синдром Вагнера / Wagner syndrome	1 жен. / 1 woman
Синдром Маршалла / Marshall syndrome	1 муж. / 1 man
Сахарный диабет Diabetes mellitus	36 (16 муж., 20 жен.) 36 (16 men, 20 women)
Ретинопатия недоношенных Retinopathy of premature	29 (10 муж., 19 жен.) 29 (10 men, 19 women)
Семейная экссудативная витреоретинопатия Familial exudative vitreoretinopathy	2 муж. / 2 men
Болезнь Норри / Norrie disease	1 муж. / 1 man
Синдром Вольфрама / Wolfram syndrome	1 жен. / 1 woman
Болезнь Коатса / Coats disease	3 муж. / 3 men
X-сцепленный ювенильный ретиношизис X-linked juvenile retinoschisis	4 муж. / 4 men
Синдром Аксенфельда — Ригера Axenfeld - Rieger syndrome	2 жен. / 2 women

**Таблица 2.** Частые моногенные заболевания, сопровождающиеся пролиферативным синдромом, и современные подходы к таргетному лечению**Table 2.** Common monogenic disorders accompanied by proliferative syndrome and current approaches to targeted treatment

Диагноз / преимущественная локализация Diagnosis / predominant localization	Ген Gene	Тип наследования Inheritance	Распространенность Prevalence	Экспериментальное лечение Clinical trials
<b>Сетчатка / Retina</b>				
<b>Синдром Гольдмана — Фавре (синдром повышенного ответа колбочек)</b> Enhanced S-Cone Syndrome (Goldmann-Favre syndrome)	<i>NR2E3</i>	AR	~1:1000000	NCT02435940
<b>Синдром Стиклера, тип 1-5 / Stickler syndrome type 1-5</b>	<i>COL2A1,</i> <i>COL11A1,</i> <i>COL11A1,</i> <i>COL9A1,</i> <i>COL9A2</i>	AD, AR	1:10000	NCT00270686
<b>Синдром Вагнера / Wagner syndrome</b>	<i>CSPG2</i> <i>VCAN</i>	AD	<1:1000000	NCT00270686
<b>Синдром Маршалла / Marshall syndrome</b>	<i>COL11A1</i>	AD	<1:1000000	NCT00270686
<b>Сахарный диабет / Diabetes mellitus</b>	<i>IGF1</i>	AR	1:5000	NCT00446381
<b>Хориоидея / Choroid</b>				
<b>Ретинопатия недоношенных / Retinopathy of prematurity</b>	<i>VEGF,</i> <i>VEGFA,</i> <i>VEGFR2</i>	-	1:5000	<b>Много подходов в зависимости от типа и стадии заболевания</b> Numerous approaches depending on the type and stage of the disease
<b>Семейная экссудативная витреоретинопатия</b> Familial exudative vitreoretinopathy	<i>FZD4</i>	AD	~1:1000000	NCT00106756
<b>Болезнь Норри / Norrie disease</b>	<i>NDP</i>	XLR	~1:1000000	-
<b>Синдром Вольфрама / Wolfram syndrome</b>	<i>WFS1</i>	AR	~1:1000000	NCT02841553 NCT03951298
<b>Стекловидное тело / Vitreous</b>				
<b>Болезнь Коатса / Coats disease</b>	<i>NDP</i>	XLR	~1:1000000	NCT03940690 NCT04310631
<b>X-сцепленный ювенильный ретиношизис</b> X-linked juvenile retinoschisis XLRs	<i>RS1</i>	XLR	1:5000	NCT02416622 NCT02317887
<b>Роговица и передний отрезок / Cornea and anterior segment</b>				
<b>Синдром Аксенфельда — Ригера, тип 1 / Axenfeld-Rieger syndrome type 1</b>	<i>PITX2</i>	AD	~1:1000000	NCT01793168
<b>Синдром Аксенфельда — Ригера, тип 3 / Axenfeld-Rieger syndrome type 3</b>	<i>FOXC1</i>	AD		

**Примечание.** AD — аутосомно-доминантный, AR — аутосомно-рецессивный, XLR — X-сцепленный рецессивный.

**Note.** AD, autosomal dominant inheritance; AR, autosomal recessive inheritance; XLR, X-linked recessive inheritance.

мендации относительно возможности получить эффективное лечение в будущем (табл. 2).

Анализ результатов обнаруженных мутаций во 2-й группе пациентов с клиническим диагнозом «пролиферативная диабетическая витреоретинопатия» выявил полиморфизм -509C>T в гене *TGFB1* у 2 пациентов и полиморфизм c.3174G>A в гене *IGF1R* у 3 пациентов.

При аннотации генетических результатов 3-й группы с клиническим диагнозом «ретинопатия недоношенных, III или IV стадия» наиболее частыми были полиморфизмы +13553C>T (5 пациентов) -634G>C, +405G>C (rs2010963) (3 пациента), -460C>T (rs833061) (2 пациента) в гене *VEGFA*.

В применяемый подход был включен анализ наличия мутаций в генах, прямо или косвенно участвующих в процессе ангиогенеза, и основных сигнальных путей. Частично список генов представлен в таблице 3. Молекулярно-генетический анализ проводился в рамках внутривитреальной ретинальной лазерной коагуляции и имел свои ограничения при применении в практическом здравоохранении.

С учетом развивающихся подходов генного редактирования [8], генного замещения, усиления функции генов, а также с учетом появления РНК-подходов к лечению [9] возможна действенная медицинская помощь в этих случаях в ближайшие годы, поэтому важно доводить до конца диагностику, чтобы у пациентов было больше шансов

**Таблица 3.** Основные гены, участвующие в пролиферативных процессах**Table 3.** Major genes involved in proliferative processes

Ген / Gene	Описание функции и локализации транскриптов генов / Description of the function and localization of the gene transcripts
<i>VEGF</i>	<b>Фактор роста эндотелия сосудов</b> Vascular endothelial growth factor
<i>ACE</i>	<b>Ангиотензинпревращающий фермент</b> Angiotensin I converting enzyme
<i>AGTR1</i>	<b>Рецептор ангиотензина II типа 1</b> Angiotensin II receptor type 1
<i>BDNF</i>	<b>Нейротрофический фактор мозга</b> Brain derived neurotrophic factor
<i>CETP</i>	<b>Белок переноса эфира холестерина</b> Cholesteryl ester transfer protein
<i>CFH</i>	<b>Фактор комплемента H</b> Complement factor H
<i>COL2A1</i>	<b>Альфа 1 цепь коллагена 2-го типа</b> Collagen type II alpha 1 chain
<i>COL9A1/A2</i>	<b>Альфа 1/2 цепь коллагена 9-го типа</b> Collagen type IX alpha 1/2 chain
<i>COL11A1</i>	<b>Альфа 1 цепь коллагена 11-го типа</b> Collagen type XI alpha 1 chain
<i>VCAN (CSPG2)</i>	<b>Версикан / Versican</b>
<i>EPAS1</i>	<b>Эндотелиальный белок pas домена 1</b> Endothelial pas domain protein 1
<i>GP1BA</i>	<b>Гликопротеин I<sub>b</sub> тромбоцитов, субъединица альфа</b> Glycoprotein I <sub>b</sub> platelet subunit alpha
<i>LRP5</i>	<b>Белок, связанный с рецептором липидов 5</b> LDL receptor related protein 5
<i>NOS3</i>	<b>Синтаза оксида азота 3 / Nitric oxide synthase 3</b>
<i>FZD4</i>	<b>Рецептор по типу «завиток», класс 4</b> Frizzled class receptor 4
<i>IHH</i>	<b>Сигнальная молекула индийского ежа</b> Indian hedgehog signaling molecule
<i>NDP</i>	<b>Фактор роста норрин, цистиновый узел</b> Norrin cystine knot growth factor NDP
<i>RS1</i>	<b>Ретиношизин 1 / Retinoschisin 1</b>
<i>TBX5</i>	<b>T-бокс транскрипционный фактор 5</b> T-box transcription factor 5
<i>TLR4</i>	<b>Toll-подобный рецептор 4</b> Toll like receptor 4
<i>TSPAN12</i>	<b>Тетраспанин 12 / Tetraspanin 12</b>
<i>HIF-1</i>	<b>Гипоксия-индуцибельный фактор</b> Hypoxia-inducible factor
<i>PDGF</i>	<b>Тромбоцитарный фактор роста</b> Platelet-derived growth factor
<i>PIGF</i>	<b>Плацентарный фактор роста</b> Placental growth factor

на лечение или участие в финальных фазах международных клинических исследований.

В будущем в зависимости от лидирующего патологического пути пролиферации у конкретного пациента будет применяться блокатор (или активатор ингибитора) причинного состояния, как сегодня успешно применяется anti-VEGF и anti-PIGF терапия, известно также об успешных попытках применения низкомолекулярного лечения AGX51 [10]. AGX51 является первым в своем классе антагонистом семейства ДНК-связывающих/дифференцирующих белков (pan inhibitor of differentiation). AGX51 ингибирует взаимодействие Id1-E47, что приводит к убиквитин-опосредованной деградации, задержке роста клеток и снижению их жизнеспособности, ингибирует патологическую неоваскуляризацию глаза.

В данном исследовании подтвердились мировые данные о повышенной встречаемости полиморфизмов -509C>T в гене *TGFB1* и с.3174G>A в гене *IGF1R* у пациентов с диабетической ретинопатией. Проведение молекулярно-генетического тестирования пациентам с пролиферативной стадией диабета [11–13] позволит дифференцировать эти случаи и при наличии указанных мутаций давать более точные прогнозы о течении и тяжести заболевания, а также проводить медико-генетические консультации пациентам и их семьям для предотвращения проявления заболевания у членов семьи наряду с подходами генетического редактирования.

Также мы видим, что ретинопатия недоношенных имеет более тяжелое течение при наличии одной из четырех наиболее патогенных мутаций (+13553C>T, -634G>C, +405G>C (rs2010963), -460C>T (rs833061)) в гене *VEGFA* [14–16].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данное исследование продолжается, в дальнейшем планируется расширить спектр обнаруживаемых нозологий. Совместные усилия специалистов из разных стран дают надежду на эффективное лечение пациентов с неконтролируемой пролиферацией клеток сосудистой сети органа зрения.

Для уточнения прогноза течения и тяжести процесса у пациентов с пролиферативными изменениями органа зрения [17, 18], подбора оптимальной терапевтической тактики и патогенетически ориентированного таргетного лечения необходимо проведение специализированного молекулярно-генетического тестирования с применением усовершенствованного подхода к анализу полученных данных.

## Финансирование/Funding

Проект финансировался из собственных средств ООО «Офтальмик» и НП «МНПЦПТ».

Sources of funding: the project is supported by own means of LLC "Oftalmic" and International Scientific and Practical Center for Tissue Proliferation.

## Благодарность/Acknowledgement

Данная работа не могла бы быть выполнена без содействия офтальмологов, генетиков, неврологов, педиатров, с которыми проводились консультации по дифференциальной диагностике и клиническому обследованию пациентов: Аванесова Т.А. (Москва), Бёме А.А. (Москва), Бондарь В.А. (Москва), Вурдафт А.Е. (Москва), Гайсин Е.В. (Уфа), Гигинеишвили Д.Н. (Москва), Гортишели К.В. (Москва), Гуринова Е.Е. (Якутск), Жегулина И.О. (Москва), Журкова Н.В. (Москва), Жученко Н.А. (Москва), Зольникова И.В. (Москва), Кречмар М.В. (Санкт-Петербург), Маркова Т.В. (Москва), Николаева А.В. (Улан-Удэ), Нургалиева Л.Р. (Уфа), Суханова Н.В. (Москва), Хаченко И.Е. (Москва), Шестопалова Е.А. (Москва).

This work could not have been done without the assistance of ophthalmologists, geneticists, neurologists, pediatricians, who were consulted on differential diagnosis and clinical examination of patients: Avanesova T.A. (Moscow), Boehme A.A. (Moscow), Bondar V.A. (Moscow), Vurdaft A.E. (Moscow), Gaisin E.V. (Ufa), Gigineishvili D.N. (Moscow), Gorgisheli K.V. (Moscow), Gurinova E.E. (Yakutsk), Zhegulina I.O. (Moscow), Zhurkova N.V. (Moscow), Zhuchenko N.A. (Moscow), Zolnikova I.V. (Moscow), Krechmar M.V. (St. Petersburg), Markova T.V. (Moscow), Nikolaeva A.V. (Ulan-Ude), Nurgalieva L.R. (Ufa), Sukhanova N.V. (Moscow), Khatsenko I.E. (Moscow), Shestopalova E.A. (Moscow).

### Литература/References

- Rivera J.C., Dabouz R., Noueihed B. et al. Ischemic Retinopathies: Oxidative Stress and Inflammation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017;(7):16. DOI: 10.1155/2017/3940241.
- Chen J.F., Zhang S., Zhou R. et al. Adenosine receptors and caffeine in retinopathy of prematurity. *Mol Aspects Med*. 2017;(55):118–125. DOI: 10.1016/j.mam.2017.01.001.
- Swan R., Kim S.J., Campbell J.P. et al. The genetics of retinopathy of prematurity: a model for neovascular retinal disease. *Ophthalmol Retina*. 2018;2(9):949–962. DOI: 10.1016/j.oret.2018.01.016.
- Selvam S., Kumar T., Fruttiger M. Retinal vasculature development in health and disease. *Prog Retin Eye Res*. 2018;63:1–19. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2017.11.001.
- Kim S.J., Port A.D., Swan R. et al. Retinopathy of Prematurity: A Review of Risk Factors and their Clinical Significance. *Surv Ophthalmol*. 2018;63(5):618–637. DOI: 10.1016/j.survophthal.2018.04.002.
- Nashwa S.Z., Khair M., Ismail A.S. et al. Detection of FZD4, LRP5 and TSPAN12 genes variants in Malay premature babies with retinopathy of prematurity. *J Ophthalmic Vis Res*. 2019;14(2):171–178. DOI: 10.4103/jovr.jovr\_210\_17.
- Malaichamy S., Yohe S., Ghosh A. et al. Prevalence of mutations in inherited retinal diseases: A comparison between the United States and India. *Mol Genet Genomic Med*. 2020;8:e1081. DOI: 10.1002/mgg3.1081.
- Roudnicky F., Zhang J.D., Kim B.K. et al. Inducers of the endothelial cell barrier identified through chemogenomic screening in genome-edited hPSC-endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2020;117(33):19854–19865. DOI: 10.1073/pnas.1911532117.
- Wang Y., Wang X., Wang Y.X. et al. The Long-Noncoding RNA TUG1 Regulates Oxygen-Induced Retinal Neovascularization in Mice via MiR-299. *Invest Ophthalmol. Vis Sci*. 2022;63(1):37. DOI: 10.1167/iovs.63.1.37.
- Wojnarowicz P.M., Silva R.L., Ohnaka M. A small-molecule pan-Id antagonist inhibits pathologic ocular neovascularization. *Cell Rep*. 2019;29(1):62–75. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.08.073.
- Graham P.S., Kaidonis G., Abhary S. et al. Genome-wide association studies for diabetic macular edema and proliferative diabetic retinopathy. *BMC Med Genet*. 2018;19(1):71. DOI: 10.1186/s12881-018-0587-8.
- Pollack S., Igo R.P. Jr, Jensen R.A. et al. Multiethnic Genome-Wide Association Study of Diabetic Retinopathy Using Liability Threshold Modeling of Duration of Diabetes and Glycemic Control. *Diabetes*. 2019;68(2):441–456. DOI: 10.2337/db18-0567.
- Grassi M.A., Tikhomirov A., Ramalingam S. et al. Genome-wide meta-analysis for severe diabetic retinopathy. *Hum Mol Genet*. 2011;20(12):2472–2481. DOI: 10.1093/hmg/ddr121.
- Pietrzyk J.J., Kwinta P., Bik-Multanowski M. et al. New insight into the pathogenesis of retinopathy of prematurity: assessment of whole-genome expression. *Pediatr Res*. 2013;73(4 Pt 1):476–483. DOI: 10.1038/pr.2012.195.
- Tao T., Meng X., Xu N. et al. Ocular phenotype and genetical analysis in patients with retinopathy of prematurity. *BMC Ophthalmol*. 2022;22(1):22. DOI: 10.1186/s12886-022-02252-x.
- Guo Y., Du F., Tan Y.L. et al. VEGF-mediated angiogenesis in retinopathy of prematurity is co-regulated by miR-17-5p and miR-20a-5p. *Biochem Cell Biol*. 2021;99(4):414–423. DOI: 10.1139/bcb-2020-0357.
- Балашова Л.М., Борзун Н.С., Ажугим М.Н. Задняя гиалоидная мембрана: анатомо-физиологические особенности, роль в развитии витреоретинальной пролиферации. *Клиническая офтальмология*. 2002;2:78. [Balashova L.M., Borzun N.S., Azhugim M.N. Posterior hyaloid membrane: anatomical and physiological features, role in the development of vitreoretinal proliferation. *Clinical Ophthalmology*. 2002;2:78 (in Russ.).]
- Балашова Л.М., Попов А.В. Патент на изобретение № 2440159 от 20.01.2012. «Способ торможения процессов пролиферации в сетчатке при ее повреждении». [Balashova L.M., Popov A.V. Patent for invention No. 2440159 dated January. 20, 2012 "Method of inhibition of proliferation processes in the retina when it is damaged" (in Russ.).]

### Сведения об авторах:

<sup>1</sup>Винер Марианна Евгеньевна — к.м.н., руководитель; ORCID iD 0000-0002-1089-4293.

<sup>2,3</sup>Бакунина Наталья Александровна — к.м.н., врач-офтальмолог; ORCID iD 0000-0002-1148-5184.

<sup>4</sup>Салмаси Жан Мустафавич — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патофизиологии; ORCID iD 0000-0001-8524-0019.

<sup>4</sup>Порядин Геннадий Васильевич — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, почетный заведующий кафедрой патофизиологии; ORCID iD 0000-0003-2010-3296.

<sup>1</sup>Барх Дебмала — PhD, биоинформатик; ORCID iD 0000-0002-2557-7768.

<sup>2</sup>Кузнецова Юлия Дмитриевна — врач-офтальмолог, ORCID iD 0000-0002-4715-5873.

<sup>2,4</sup>Балашова Лариса Маратовна — д.м.н., профессор, руководитель; ORCID iD 0000-0001-9349-7092.

<sup>1</sup>ООО «Офтальмик». 125167, Россия, г. Москва, Ленинградский пр-т, д. 47/3.

<sup>2</sup>НП «МНПЦПТ». 119034, Россия, г. Москва, ул. Пречистенка, д. 29/14.

<sup>3</sup>ГКБ № 1 им. Н.И. Пирогова. 119049, Россия, г. Москва, Ленинский пр-т, д. 8.

<sup>4</sup>РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России. 117997, Россия, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1.

**Контактная информация:** Винер Марианна Евгеньевна, e-mail: info@oftalmic.ru.

**Конфликт интересов:** Винер М.Е., Барх Д. являются сотрудниками ООО «Офтальмик». Балашова Л.М., Бакунина Н.А., Кузнецова Ю.Д. являются сотрудниками НП «МНПЦПТ». Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Статья поступила 13.07.2020.**

### About the authors:

<sup>1</sup>Marianna E. Weener — C. Sc. (Med.), Head; ORCID iD 0000-0002-1089-4293.

<sup>2,3</sup>Natalia A. Bakunina — C. Sc. (Med.), ophthalmologist; ORCID iD 0000-0002-1148-5184.

<sup>4</sup>Jean M. Salmasi — Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Pathophysiology; ORCID iD 0000-0001-8524-0019.

<sup>4</sup>Gennadiy V. Poryadin — Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of the RAS, Honorary Head of the Department of Pathophysiology; ORCID iD 0000-0003-2010-3296.

<sup>1</sup>Debmalya Barh — PhD, bioinformatician; ORCID iD 0000-0002-2557-7768.

<sup>2</sup>Yulia D. Kuznetsova — ophthalmologist, ORCID iD 0000-0002-4715-5873.

<sup>2,4</sup>Larisa M. Balashova — Dr. Sc. (Med.), Professor, Head; ORCID iD 0000-0001-9349-7092.

<sup>1</sup>LLC "Oftalmic", 47/3, Leningradskiy av., Moscow, 125167, Russian Federation.

<sup>2</sup>Non-profit partnership "International Scientific and Practical Center for the Proliferation of Tissues of Russia", 29/14, Prechistenka str., Moscow, 119034, Russian Federation.

<sup>3</sup>N.I. Pirogov City Clinical Hospital No. 1, 8, Leninskiy av., Moscow, 119049, Russian Federation.

<sup>4</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, 1, Ostrovityanov str., Moscow, 117997, Russian Federation.

**Contact information:** Marianna E. Weener, e-mail: info@oftalmic.ru.

**Financial Disclosure:** Marianna E. Weener and Debmalya Barh are employees of the LLC "Oftalmic". Larisa M. Balashova, Natalia A. Bakunina, and Yulia D. Kuznetsova are employees of the International Scientific and Practical Center for Tissue Proliferation. Other authors declare no conflict of interests.

**Received 13.07.2020.**