

DOI: 10.32364/2311-7729-2023-23-4-7

## Перспективы применения протеомного анализа в офтальмологии

А.А. Крылова<sup>1</sup>, А.В. Захарчук<sup>1</sup>, О.И. Кривошеина<sup>1</sup>, С.И. Пеков<sup>2,3</sup>, И.А. Попов<sup>1,3</sup><sup>1</sup>ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, Томск, Россия<sup>2</sup>Сколковский институт науки и технологий, Сколково, Россия<sup>3</sup>МФТИ, Москва, Россия

### РЕЗЮМЕ

В обзоре литературы оцениваются перспективы применения протеомного анализа слезы и внутриглазной жидкости для определения биомаркеров различных заболеваний органа зрения в ходе дифференциальной диагностики патологии глаз. Подробно рассматривается методология забора биоматериала, преимущества и недостатки существующих методов. Представлены результаты протеомного картирования слезы и внутриглазной жидкости при таких заболеваниях, как синдром «сухого глаза», кератоконус, глаукома, катаракта, возрастная макулодистрофия, диабетическая ретинопатия. Особое внимание уделено взаимосвязи концентраций обнаруженных белков и их роли в запуске таких патологических реакций, как оксидативный стресс с развитием аутофагии и, как следствие, в появлении дистрофических изменений в тканях; инициирование воспалительных реакций; нарушение обменных процессов на молекулярном уровне с активацией патологического протеолиза, что в конечном итоге приводит к изменениям на клеточном и тканевом уровне с развитием перечисленных заболеваний.

В статье подчеркивается и практическая значимость применения протеомики при изучении патогенеза офтальмопатологии, заключающаяся в определении взаимосвязи генотипа и фенотипа пациента в клинической практике с дальнейшей персонализацией проводимого лечения, а также открывающая возможности для ранней неинвазивной диагностики социально значимых заболеваний органа зрения.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** протеомный анализ, слезная жидкость, внутриглазная жидкость, масс-спектрометрия, офтальмопатология.

**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:** Крылова А.А., Захарчук А.В., Кривошеина О.И., Пеков С.И., Попов И.А. Перспективы применения протеомного анализа в офтальмологии. *Клиническая офтальмология*. 2023;23(4):213–218. DOI: 10.32364/2311-7729-2023-23-4-7.

## Perspectives of proteomic analysis in ophthalmology

А.А. Krylova<sup>1</sup>, А.В. Zakharchuk<sup>1</sup>, О.И. Krivosheina<sup>1</sup>, С.И. Pekov<sup>2,3</sup>, И.А. Popov<sup>1,3</sup><sup>1</sup>Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation<sup>2</sup>Skolkovo Institute of Science and Technologies, Skolkovo, Russian Federation<sup>3</sup>Moscow Institute of Physics and Technology, Moscow, Russian Federation

### ABSTRACT

This paper reviews the perspectives of proteomic analysis of tear and aqueous humor to determine biomarkers for the differential diagnosis of eye disorders. The methodology of sample collection and the advantages and disadvantages of the available methods are discussed in detail. The results of proteomic mapping of tear and aqueous humor in dry eye disease, keratoconus, glaucoma, cataract, age-related macular degeneration, and diabetic retinopathy are described. The association between the levels of identified proteins and their role in triggering pathological processes, e.g., oxidative stress with autophagy (and, as a result, tissue dystrophy), initiation of inflammation, and impairment of metabolic processes at the molecular level with activation of pathological proteolysis (that ultimately lead to cellular and tissue changes with the development of the above-mentioned diseases) are of particular importance. This paper also emphasizes the practical relevance of using proteomics to study the pathogenesis of eye diseases, which implies determining the association between genotype and phenotype of a patient in clinical practice with further treatment personalization. Proteomics also provides an early noninvasive diagnosis of socially significant eye diseases.

**KEYWORDS:** proteomic analysis, tear, aqueous humor, mass spectrometry, eye disorders.

**FOR CITATION:** Krylova A.A., Zakharchuk A.V., Krivosheina O.I., Pekov S.I., Popov I.A. *Perspectives of proteomic analysis in ophthalmology*. *Russian Journal of Clinical Ophthalmology*. 2023;23(4):213–218 (in Russ.). DOI: 10.32364/2311-7729-2023-23-4-7.

### ВВЕДЕНИЕ

Протеомика (от английских слов PROTEins — белки и геноМ — геном) — молодая перспективная наука, позволяющая оценить совокупность белков исследуемого биологического объекта, а также структурно-функциональные свойства белковых молекул и их модификации [1]. В настоящее время особый интерес для практической медицины представляет так называемая клиническая протеомика, ко-

торая анализирует белковый состав исследуемой жидкости конкретного пациента и сравнивает его с международными базами данных, в частности Gene Ontology [2], выявляя «биологические маркеры» — молекулы белков, играющие значимую роль в ранней и дифференциальной диагностике различных заболеваний и патологических состояний [3–5]. Кроме того, качественное и количественное изучение белкового состава (протеомное картирование) иссле-

двумя биологического объекта или группы объектов позволяет углубить знания о патогенезе заболевания на молекулярном уровне, а также предположить, какие гены ответственны за экспрессию или подавление выработки того или иного белка, позволяя связать фенотип с генотипом [4]. При этом клиническая протеомика позволяет оценить изменения, происходящие в больном организме на фоне лекарственной терапии, способствуя формированию персонализированного подхода к лечению [4]. Все вышесказанное обуславливает повышенный интерес ученых и клиницистов к новой науке и объясняет большое количество научных исследований, посвященных изучению протеома человека.

## ПРОТЕОМИКА В ОФТАЛЬМОЛОГИИ

На сегодняшний день офтальмология — одна из клинических наук, активно использующая метод протеомного анализа [6]. Наиболее часто объектом исследования становится материал, получаемый в ходе «жидкой биопсии» [4] — слезная жидкость, влага передней камеры или аспират стекловидного тела.

Слеза является одной из самых доступных для исследования биологических жидкостей [4, 7], исследование которой сочетается с неинвазивностью при заборе проб, достаточной изученностью (в настоящее время идентифицировано 1620 белков слезы) [8], а также, в отличие от плазмы крови, в слезе отмечается низкое содержание протеинов «биохимического фона», затрудняющих поиск белков-маркеров [4]. Тем не менее использование слезы в качестве объекта исследования имеет определенные «слабые стороны»: малые объемы забранных проб, возможное ее загрязнение микробиомом конъюнктивальной полости и попадание кератоцитов в полученные образцы [4, 9]. Однако указанные недостатки устраняются путем центрифугирования взятого материала [8], что исключает загрязнение образцов. Для повышения эффективности исследования белкового состава слезы возможно проведение жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией, что позволяет идентифицировать вещества, содержащиеся в слезной жидкости в малых концентрациях [10].

## СПОСОБЫ СБОРА СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ

В настоящее время забор слезной жидкости для протеомного картирования чаще всего осуществляется двумя способами: с помощью тест-полосок Ширмера или посредством микрокапиллярных пробирок, причем каждый из указанных способов имеет свои преимущества и недостатки.

Тест-полоска Ширмера — полоска фильтровальной бумаги размером 0,5×4,0 см, один из концов которой закруглен. Перед исследованием закругленный конец тест-полоски загибают на 0,5 см и помещают за нижнее веко в конъюнктивальную полость исследуемого глаза на 5 мин, в течение которых происходит пропитывание полоски слезой. Преимуществом применения тест-полосок Ширмера является простота их использования, не требующая специального обучения лиц, выполняющих забор проб [4]. При этом пациенты, у которых взятие образцов слезы осуществлялось при помощи и тест-полосок Ширмера, и микрокапиллярных пробирок, отмечают, что первый способ вызывает меньше дискомфорта, вероятно, в связи

с гибкостью полосок Ширмера, в отличие от жестких микрокапилляров [9]. Кроме того, тест-полоски легче транспортировать и хранить в течение длительного периода времени благодаря специальному методу высушивания [11]. Указанные преимущества существенно повышают доступность протеомного исследования слезной жидкости и создают основу для формирования биобанков слез [11], а тест-полоски Ширмера используются в большинстве крупных исследований белковых соединений слезной жидкости [8, 12, 13].

Однако, говоря о преимуществах забора слезной жидкости с помощью тест-полосок Ширмера, необходимо отметить и ряд недостатков, обусловленных методологией забора слезы. Так, например, непосредственный контакт полоски фильтровальной бумаги с конъюнктивой век и глазного яблока вызывает раздражение оболочки и провоцирует нежелательное слезотечение [4], которое неконтролируемо может изменить концентрацию белка в полученных образцах [4]. Тем не менее при заборе слезы с помощью тест-полосок Ширмера не рекомендуется использовать местную анестезию, так как при этом снижается слезопродукция [4].

Кроме того, при использовании тест-полосок Ширмера возникают нековалентные взаимодействия белковых молекул слезы с собственно полосками фильтровальной бумаги, что также оказывает непосредственное влияние на получаемый результат [14].

Затруднения при использовании тест-полосок Ширмера возникают и на этапе экстракции материала для проведения масс-спектрометрического анализа слезы. Так, манипуляции, проводимые с тест-полоской после сбора биоматериала, в частности, разрезание полоски, могут привести к ее загрязнению с риском потери белковых соединений. Это, в свою очередь, существенно повышает изменчивость получаемых результатов [15].

Возможная потеря протеинов слезной жидкости на этапе экстракции биоматериала способствовала разработке новых методов выделения белков как с использованием различных экстракционных растворителей, так и с варьированием времени и температуры выдержки тест-полосок для минимизации потерь белковых соединений [12, 13]. Кроме того, разработан метод центрифугирования тест-полосок Ширмера [8], при котором центробежная сила вытягивает слезную жидкость из полосок фильтровальной бумаги без использования специальных буферных растворителей [8, 16].

Однако необходимо отметить, что, несмотря на многообразие способов получения образцов слезной жидкости, существующие на сегодняшний день методы экстракции протеинов из слезы могут привести к ошибкам в идентификации и количественном определении ее белкового состава [4].

Отбор образцов слезы для протеомного картирования с помощью микрокапиллярных пробирок в определенной степени позволяет избежать недостатков тест-полосок Ширмера. В частности, данный способ менее инвазивен (во время забора пробы пробирка не должна касаться слезного мясца или конъюнктивы век и глазного яблока), безопасен и не вызывает рефлекторного слезотечения у пациента [4]. В то же время манипуляцию может проводить лишь специально обученный персонал, что существенно ограничивает применение данного способа забора биоматериала в рутинной клинической практике [4].

Микрокапиллярная пробирка представляет собой полый цилиндр из пластика или стекла, который при взятии слезы располагают в конъюнктивальной полости исследуемого глаза горизонтально по ходу глазной щели таким образом, чтобы слезная жидкость смогла течь в пробирку. Как правило, данным способом можно собрать 3–5 мкл слезной жидкости при общем ее объеме в конъюнктивальном мешке 7–10 мкл [9]. Манипуляция занимает несколько минут, которые необходимы для продуцирования слезы добавочными слезными железами при средней скорости ее базальной секреции 0,5–2,2 мкл/мин в нормальных условиях [9]. В связи с этим использование микрокапиллярных пробирок при заборе слезы для протеомного картирования обеспечивает сбор так называемой «нестимулированной» слезной жидкости, максимально приближенной к своему естественному составу [9].

Недостатком микрокапиллярных пробирок, помимо дискомфорта пациентов при заборе биоматериала и необходимости специального обучения персонала, является моргание пациентов во время взятия слезы, что прерывает манипуляцию и увеличивает время ее проведения. Кроме того, согласно данным T. Sitaramamma et al. [17], длительное закрытие глаз меняет состав протеома слезы. Так, например, непосредственно после сна концентрация белков в слезной жидкости выше, чем в условиях бодрствования, и, хотя объем получаемого биоматериала, как правило, меньше [4, 17], при использовании микрокапиллярных пробирок забор слезы рекомендуется проводить в утренние часы.

Необходимо отметить, что применение обоих способов забора слезы для протеомного картирования обеспечивает сходные количественные результаты исследования слезной жидкости. При этом оба способа обладают высокой чувствительностью к определению белковых соединений. Тем не менее в образцах слезы, взятых с помощью микрокапиллярных пробирок, выявляется большее количество внеклеточных белков, характерных для гуморального пути иммунного ответа, в то время как в образцах слезной жидкости, собранных при помощи тест-полосок Ширмера, содержится больше внутриклеточных белков, в частности белков теплового шока, аннексинов и белков S100 [18].

## Возможности использования протеомного анализа слезы в дифференциальной диагностике офтальмопатологии

Благодаря углубленному изучению белкового состава слезной жидкости здоровых добровольцев и созданию международных баз данных, систематизирующих имеющуюся информацию, у офтальмологов появилась возможность идентификации белков — «маркеров» различных заболеваний органа зрения в ходе дифференциальной диагностики патологии глаз. На сегодняшний день наиболее изучены изменения протеома слезы при синдроме «сухого глаза» (ССГ), кератоконусе, катаракте и глаукоме, а также при ряде заболеваний заднего отрезка глаза, в частности при возрастной макулодистрофии (ВМД) и диабетической ретинопатии.

### Протеомика слезы при ССГ

Протеомное картирование слезы у пациентов с жалобами на сухость, дискомфорт и чувство засоренности в глазах может быть информативно для дифференциальной ди-

агностики патологических состояний глазной поверхности, например, ССГ на фоне дисфункции мейбомиевых желез (ДМЖ) или в сочетании с эндокринной офтальмопатией, а также при синдроме Шегрена.

Сравнительный протеомный анализ слезной жидкости у пациентов с ССГ вследствие уменьшения продукции слезы и на фоне ДМЖ выявил статистически значимое уменьшение экспрессии 26 белков и повышение уровня сывороточного альбумина при снижении секреции слезной жидкости [19]. При этом патологические изменения глазной поверхности вследствие уменьшения продукции слезы коррелируют с потерей защитных белков, обеспечивающих противовоспалительный эффект и реализацию Т-клеточного иммунного ответа: лактоферрин, липокалин 1 (lipocalin-1), пролин с высоким содержанием белка 4 (Lacrimonin Rich 4 protein), липофилин А и липофилин С [19–22].

Однако подобные изменения протеома слезной жидкости выявлены при ССГ на фоне ДМЖ и при синдроме Шегрена [4]. Кроме этого, при аутоиммунном системном поражении соединительной ткани выявлено повышение уровня белков воспаления — трансферрина и С-реактивного белка в сочетании со статистически значимым снижением уровня лизоцима, лактоферрина и эпидермального фактора роста [4], что свидетельствует о наличии хронического вялотекущего воспаления при синдроме Шегрена [4, 22].

В ходе комплексных клинических исследований протеома слезы при ССГ и эндокринной офтальмопатии установлено, что развитие и прогрессирование эндокринной офтальмопатии характеризуется активацией воспалительных белков и подавлением синтеза защитных протеинов [23]. При этом выявление определенных сочетаний белковых молекул и их концентраций (белковые панели) в слезной жидкости позволяют дифференцировать болезнь Грейвса и ССГ [23]. Кроме этого, при неактивной форме эндокринной офтальмопатии после декомпрессионной орбитотомии установлено статистически значимое изменение экспрессии 83 белков слезной жидкости [24]. Проведенное научное исследование позволяет более точно идентифицировать отдельные звенья патогенеза эндокринной офтальмопатии, лежащие в основе появления экзофтальма при неактивной форме заболевания [4].

### Протеомика слезы при кератоконусе

Одним из тяжелых заболеваний роговицы, приводящим к значительному, а нередко и необратимому снижению зрительных функций, является кератоконус [25]. По данным ряда научных исследований [4], при этом заболевании обнаруживается разная экспрессия цинк- $\alpha$ 2-гликопротеина, лактоферрина и к-цепи иммуноглобулина. Применение электрофореза в сульфатно-полиакриламидном геле в сочетании с масс-спектрометрией в ходе протеомного анализа слезной жидкости при кератоконусе позволило выявить избыточную экспрессию металлопротеиназы 1, иммуноглобулинов  $\alpha$ - и  $\kappa$ , предшественников пролактина, лизоцима С и липокалина 1 [4]. Предполагается, что истончение и изменение кривизны роговицы при кератоконусе в определенной степени связаны с повышением уровня протеаз и уменьшением уровня их ингибиторов [26, 27]. Это, в свою очередь, приводит к потере механических свойств коллагеновых волокон роговицы — ключевому звену патогенеза данного заболевания [27].

## ПРОТЕОМИКА СЛЕЗЫ И ВЛАГИ ПЕРЕДНЕЙ КАМЕРЫ ПРИ ГЛАУКОМЕ И КАТАРАКТЕ

Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) — заболевание, которое приводит к необратимой атрофии ганглиозных клеток зрительного нерва и выраженному снижению зрительных функций на фоне повышения внутриглазного давления [28]. В большинстве случаев заболевание начинается бессимптомно, что обуславливает необходимость поиска белков-маркеров, обнаружение которых в слезе или внутриглазной жидкости способствовало бы ранней диагностике ПОУГ. Согласно имеющимся данным [29] при развитии глаукомного процесса в слезе уже на начальной стадии обнаруживается повышенный уровень белков воспаления, в частности белка S100. Тем не менее до настоящего времени специфического одиночного белка или комбинации белковых молекул в слезной жидкости, являющихся патогномоничными для ПОУГ, не выявлено [3]. Кроме того, по мнению ряда ученых, более перспективным биоматериалом для протеомного анализа при ПОУГ является влага передней камеры за счет ее непосредственного контакта с дренажной системой угла передней камеры [3]. Забор влаги передней камеры осуществляется в ходе хирургической манипуляции после парацентеза роговицы или во время факоэмульсификации [3]. Для качественной и количественной оценки протеома влаги передней камеры при ПОУГ чаще всего проводится жидкостная хроматография в сочетании с высокоточной тандемной масс-спектрометрией [3].

Протеомный анализ образцов водянистой влаги, взятой у пациентов, страдающих ПОУГ в сочетании с псевдоэксфолиативным синдромом и катарактой, позволил идентифицировать 12 уникальных белков, в частности аполипопротеин C-III (apolipoprotein C-III), коллаген  $\alpha 2(I)$  цепь и  $\alpha 3$  (IX) цепь (collagen  $\alpha$ -2(I) и  $\alpha$ -3(IX) chain), нейроэндокринный регуляторный пептид-1, -2 (neuroendocrine regulatory peptide-1, -2) и т. д. [3]. Большая часть указанных белковых молекул относится к ингибиторам эндопептидаз, регулирующих обмен веществ во внутриглазной жидкости. Как известно, именно нарушение баланса ингибиторов эндопептидаз, предотвращающих активацию патологического протеолиза, является одним из ключевых факторов патогенеза ПОУГ [3].

Помимо этого, во влаге передней камеры у пациентов с ПОУГ выявлены матриксные металлопротеиназы [3], вызывающие разрушение базальных мембран клеток и лизис компонентов межклеточного матрикса с активацией ангиогенных факторов роста [30], в частности эндотелиального фактора роста сосудов A и фибронектина [1]. В ходе протеомного анализа выявлено также повышение уровня CD44 — гликопротеина, регулирующего клеточную адгезию и миграцию и обеспечивающего межклеточные взаимодействия. CD44 является также рецептором для гиалуроновой кислоты, некоторых лигандов и части матриксных металлопротеиназ [3]. Повышение экспрессии данного белка способствует снижению уровня гиалуроновой кислоты, что может оказывать негативное влияние на трабекулярный аппарат и ускорять апоптоз ганглионарных клеток сетчатки [3].

Н.И. Самохиной и соавт. [3] во влаге передней камеры больных ПОУГ обнаружен белок — ингибитор пептидазы (pigment epithelium derived factor — фактор пигментного эпителия, genename SERPIN F1) семейства серпинов — протеинов, ингибирующих пептидазы. Согласно данным литературы выявленный белок синтезируется клетками

пигментного эпителия сетчатки и является природным ингибитором ангиогенеза, защищающим ретинальные клетки от апоптоза [3].

Протеомный анализ образцов влаги передней камеры пациентов с ПОУГ позволил также идентифицировать уникальный белок — аполипопротеин D, снижение уровня которого характерно для псевдоэксфолиативного синдрома. Необходимо отметить, что уменьшение средней интенсивности сигнала данного белка менее  $4,8 \times 10^{-7}$  мг/кг может прогнозировать развитие указанного синдрома с чувствительностью 72,7% и специфичностью 100% [31]. Уменьшение уровня аполипопротеина D во влаге передней камеры при глаукомном процессе свидетельствует о снижении ее защитных функций, что, в свою очередь, способствует появлению псевдоэксфолиаций на структурах переднего отрезка глазного яблока. При этом указанный белок обнаруживался только в образцах водянистой влаги передней камеры, в то время как в слезной жидкости при ПОУГ и псевдоэксфолиативном синдроме его выявлено не было, что, вероятно, связано со специфичностью выработки антител [3, 31].

Еще одним значимым белковым соединением, обнаруженным при псевдоэксфолиативной глаукоме, был фибронектин, являющийся адгезивной молекулой для соединительной ткани (тканевая форма белка) и биологических жидкостей (плазменная форма). Данный гликопротеин внеклеточного матрикса выполняет регуляторную и стабилизирующую функции при межклеточных взаимодействиях [3]. Согласно данным литературы [31] при различных видах глаукомы фибронектин обнаруживается в дренажной системе угла передней камеры глазного яблока и в составе псевдоэксфолиаций. При этом уровень фибронектина существенно выше при псевдоэксфолиативной глаукоме, нежели при ПОУГ [3, 31].

Развитие и прогрессирование псевдоэксфолиативной глаукомы сопровождаются повышением содержания во влаге передней камеры уровня металлопротеиназ 2, 3 типов и ингибитора металлопротеиназы 2, что свидетельствует о дисбалансе между протеолитическими ферментами и их эндогенными ингибиторами, являющимися одним из звеньев патогенеза данного вида глаукомы [3].

У больных катарактой в образцах влаги передней камеры в ходе протеомного анализа идентифицировано на сегодняшний день 26 белков [3], таких как  $\alpha$ -кристаллин (CRYA), корнеодесмосин,  $\alpha$ -цепь тубулина, витамин K-зависимый белок. Как известно, данные белковые соединения входят в состав вещества хрусталика, и их появление во влаге передней камеры обусловлено биохимическими реакциями, возникающими при развитии катаракты [3, 32]. Кроме того, гены  $\alpha$ -кристаллина A (CRYAA),  $\beta$ -кристаллина A3 (CRYBA3) и  $\beta$ -кристаллина A4 (CRYBA4) отвечают за нормальное состояние хрусталика, и их мутации способствуют выработке ряда белков, снижающих его прозрачность [3]. Повышение же пептидазной активности влаги передней камеры приводит к протеолизу субъединиц коннексинов с появлением щелей между волокнами хрусталика, прогрессирующим разрушением хрусталиковых волокон и развитием катаракты [3].

## ПРОТЕОМИКА СЛЕЗЫ ПРИ ВМД И ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ

Протеомное картирование слезы в настоящее время начинает активно использоваться для определения био-

маркеров патологии заднего отрезка глаза, в частности ВМД, диабетической ретинопатии и т. д.

На сегодняшний день в слезной жидкости больных с различными видами макулярной патологии идентифицировано 342 белка, обеспечивающих развитие оксидативного стресса и воспаления, а также неоваскуляризации хориоретинальных структур [33]. При ВМД впервые выявлены такие протеины, как шутин 1 (shootin-1), гистатин 3 (histatin-3), фиджетин-подобный белок 1 (fidgetin-like protein 1), цитоплазматический актин 1, пролактин-индуцируемый белок 1 и белок S100-A7A [33].

Протеомное картирование слезы у больных диабетической ретинопатией с целью выявления биомаркеров заболевания, согласно признанному мнению [34], является более информативным по сравнению с изучением белкового состава плазмы крови, подверженного значительным изменениям вследствие гипергликемии и гликозилирования белков при сахарном диабете. При диабетической ретинопатии в слезной жидкости выявлено существенное изменение экспрессии таких белков, как липокалин 1, лакритин и лактоферрин [34, 35], что в перспективе может использоваться в качестве эффективного скрининга заболевания [36].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, протеомный анализ — это высокоинформативный и перспективный метод диагностики социально значимых заболеваний органа зрения. Внедрение высокоточной масс-спектрометрии и использование цифровых технологий для обработки информации открывают широкие перспективы для развития протеомики и создания более персонализированной медицины. Получение новых фундаментальных знаний о патогенезе различных заболеваний глаза на молекулярном уровне позволит определять индивидуальное течение патологии путем установления связей между генотипом и фенотипом пациента и выбирать наиболее эффективное в каждом конкретном случае лечение.

## Литература / References

- Арчаков А.И. Что за геномика? – Протеомика. Вопросы медицинской химии. 2000;46(4):335–343. [Archakov A.I. What is genomics? – Proteomics. Questions of medical chemistry. 2000;46(4):335–343 (in Russ.).]
- Blake J.A., Dolan M., Drabkin H. et al. The Gene Ontology: enhancements for 2011. *Nucleic Acids Res.* 2012;40:559–564. DOI: 10.1093/nar/gkr1028.
- Самохина Н.И., Кочергин С.А., Алексеев И.Б. Диагностическое значение протеомного анализа жидкости передней камеры глаза при катаракте, первичной открытоугольной глаукоме и псевдоэксфолиативном синдроме. РМЖ. Клиническая офтальмология. 2017;1:13–17. DOI: 10.21689/2311-7729-2017-1-13-17. [Samokhina N.I., Kochergin S.A., Alekseev I.B. Diagnostic value of proteomic analysis of the fluid of the anterior chamber of the eye in cataracts, primary open-angle glaucoma and pseudoexfoliative syndrome. *Russian Journal of Clinical Ophthalmology.* 2017;1:13–17 (in Russ.).] DOI: 10.21689/2311-7729-2017-1-13-17.
- Ponzi E., Santambrogio C., De Palma A. et al. Mass spectrometry-based tear proteomics for noninvasive biomarker discovery. *Mass Spectrom Rev.* 2022;41(5):842–860. DOI: 10.1002/mas.21691.
- Califf R.M. Biomarker definitions and their applications. *Exp Biol Med.* 2018;243:213–221. DOI: 10.1177/1535370217750088.
- Самохина Н.И. Возможности использования протеомного анализа в диагностике офтальмопатологии (обзор литературы). Точка зрения. Восток — Запад. 2015;1:260–262. [Samokhina N.I. Possibilities of using proteomic analysis in the diagnosis of ophthalmopathy (literature review). *Point of view. East-West.* 2015;1:260–262 (in Russ.).]
- Zhou L., Beuerman R.W. The power of tears: how tear proteomics research could revolutionize the clinic. *Expert Rev Proteomics.* 2017;14:189–191. DOI: 10.1080/14789450.2017.1285703.
- Dor M., Eperon S., Lalive P.H. et al. Investigation of the global protein content from healthy human tears. *Exp Eye Res.* 2019;179:64–74. DOI: 10.1016/j.exer.2018.10.006.
- Rentka A., Koroskenyi K., Harsfalvi J. et al. Evaluation of commonly used tear sampling methods and their relevance in subsequent biochemical analysis. *Ann. Clin. Biochem.* 2017;54:521–529. DOI: 10.1177/0004563217695843.
- Hecht E.S., Scigelova M., Eliuk S., Makarov A. Fundamentals and advances of orbitrap mass spectrometry. In: *Encyclopedia of Analytical Chemistry.* (NY): John Wiley & Sons; 2019:1–40. DOI: 10.1002/9780470027318.a9309.pub2.
- Qin W., Zhao C., Zhang L. et al. A dry method for preserving tear protein samples. *Biopreserv Biobank.* 2017;15:417–421. DOI: 10.1016/j.jconrel.2021.06.042.
- Aass C., Norheim I., Eriksen E.F. et al. Single unit filter-aided method for fast proteomic analysis of tear fluid. *Anal Biochem.* 2015;480:1–5. DOI: 10.1016/j.ab.2015.04.002.
- Zhou L., Zhao S.Z., Koh S.K. et al. In-depth analysis of the human tear proteome. *J Proteomics.* 2012;75:3877–3885. DOI: 10.1016/j.jprot.2012.04.053.
- Denisin A.K., Karns K., Herr A.E. Post-collection processing of Schirmer strip-collected human tear fluid impacts protein content. *Analyst.* 2012;137:5088–5096. DOI: 10.1039/c2an35821b.
- Feist P., Hummon A. Proteomic challenges: sample preparation techniques for microgram-quantity protein analysis from biological samples. *Int J Mol Sci.* 2015;16:3537–3563. DOI: 10.3390/ijms16023537.
- Kishazi E., Dor M., Eperon S. et al. Thyroid-associated orbitopathy and tears: a proteomics study. *J Proteomics.* 2018;170:110–116. DOI: 10.1016/j.jprot.2017.09.001.
- Sitaramamma T., Shivaji S., Rao G.N. HPLC analysis of closed, open, and reflex eye tear proteins. *Indian J Ophthalmol.* 1998;46:239–245.
- Nättinen J., Aapola U., Jylhä A. et al. Comparison of capillary and Schirmer strip tear fluid sampling methods using SWATH-MS proteomics approach. *Transl Vis Sci Technol.* 2020;9:16. DOI: 10.1167/tvst.9.3.16.
- Jung J.H., Ji Y.W., Hwang H.S. et al. Proteomic analysis of human lacrimal and tear fluid in dry eye disease. *Sci Rep.* 2017;7(1):13363. DOI: 10.1038/s41598-017-13817-y.
- Pastori V., Tavazzi S., Lecchi M. Lactoferrin-loaded contact lenses: eye protection against oxidative stress. *Cornea.* 2015;34:693–697. DOI: 10.1097/ICO.0000000000000435.
- Pastori V., Tavazzi S., Lecchi M. Lactoferrin-loaded contact lenses counteract cytotoxicity caused in vitro by keratoconic tears. *Contact Lens Anterior Eye.* 2019;42:253–257. DOI: 10.1016/j.clae.2018.12.004.
- Ponzi E., Scotti L., Grandori R. et al. Lactoferrin concentration in human tears and ocular diseases: a meta-analysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2020;61:9. DOI: 10.1167/iov.61.12.9.
- Matheis N., Grus F.H., Breitenfeld M. et al. Proteomics differentiate between thyroid-associated orbitopathy and dry eye syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015;56:2649–2656. DOI: 10.1167/iov.15-16699.
- Jiang L., Rong A., Wei R. et al. Tear proteomics of orbital decompression for disfiguring exophthalmos in inactive thyroid-associated ophthalmopathy. *Exp Ther Med.* 2020;20:253. DOI: 10.3892/etm.2020.9383.
- Аветисов С.Э. Кератоконус: современные подходы к изучению патогенеза, диагностики, коррекции и лечения. Вестник офтальмологии. 2014;130(6):37–43. [Avetisov S.E. Keratoconus: modern approaches to the study of pathogenesis, diagnosis, correction and treatment. *Bulletin of ophthalmology.* 2014;130(6):37–43 (in Russ.).]
- Balasubramanian S.A., Wasinger V.C., Pye D.C., Willcox M.D.P. Preliminary identification of differentially expressed tear proteins in keratoconus. *Mol Vis.* 2013;19:2124–2134.
- Yenihayat F., Altıntaş Ö., Kasap M. et al. Comparative proteome analysis of the tear samples in patients with low-grade keratoconus. *Int Ophthalmol.* 2018;38:1895–1905. DOI: 10.1007/s10792-017-0672-6.
- Gupta D., Chen P.P. Glaucoma. *Am Fam Physician.* 2016;93:668–674. PMID: 27175839.
- Pieragostino D., Agnifili L., Fasanella V. et al. Shotgun proteomics reveals specific modulated protein patterns in tears of patients with primary open angle glaucoma naive to therapy. *Mol Biosyst.* 2013;9:1108–1116. DOI: 10.1039/c3mb25463a.
- Воробьева И.В., Меркушенкова Д.А., Эстрин Л.Г. Роль фактора роста эндотелия сосудов в развитии диабетической ретинопатии и диабетического макулярно-отёка у больных сахарным диабетом второго типа. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2012;3:48–55. [Vorob'eva I.V., Merkushechkova D.A., Estrin L.G. The role of vascular endothelial growth factor in the development of diabetic retinopathy and diabetic macular edema in patients with type II diabetes. *Questions of biological, medical and pharmaceutical chemistry.* 2012;3:48–55 (in Russ.).]
- Самохина Н.И. Первичная открытоугольная глаукома: диагностическое значение протеомного анализа слезы и жидкости передней камеры глаза: автореф. дис. канд. мед. наук. М., 2018. [Samokhina N.I. Primary open-angle glaucoma: diagnostic value of proteomic analysis of tears and fluid of the anterior chamber of the eye: thesis. M., 2018 (in Russ.).]
- Yi J., Yun J., Li Z.K. et al. Epidemiology and molecular genetics of congenital cataracts. *Int J Ophthalmol.* 2011;4:422–432. DOI: 10.3980/j.issn.2222-3959.2011.04.20.
- Winiarczyk M., Kaarniranta K., Winiarczyk S. et al. Tear film proteome in age-related macular degeneration. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol.* 2018;256:1127–1139. DOI: 10.1007/s00417-018-3984-y.
- Csász É., Boross P., Csutak A. et al. Quantitative analysis of proteins in the tear fluid of patients with diabetic retinopathy. *J Proteomics.* 2012;75:2196–2204. DOI: 10.1016/j.jprot.2012.01.019.
- Kim H.J., Kim P.K., Yoo H.S. et al. Comparison of tear proteins between healthy and early diabetic retinopathy patients. *Clin Biochem.* 2012;45:60–67. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2011.10.006.
- Torok Z., Peto T., Csosz E. et al. Combined methods for diabetic retinopathy screening, using retina photographs and tear fluid proteomics biomarkers. *J Diabetes Res.* 2015;623619. DOI: 10.1155/2015/623619.

**СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:**

**Крылова Анна Андреевна** — к.м.н., доцент кафедры офтальмологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России; 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, д. 2; ORCID iD 0000-0001-8009-6302.

**Захарчук Анна Викторовна** — клинический ординатор кафедры офтальмологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России; 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, д. 2; ORCID iD 0000-0002-9906-8202.

**Кривошеина Ольга Ивановна** — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой офтальмологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России; 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, д. 2; ORCID iD 0000-0001-7509-5858.

**Пеков Станислав Игоревич** — к.х.н., научный сотрудник лаборатории масс-спектрометрии Сколковского института науки и технологий; 121205, Россия, г. Москва, Большой бульвар д. 30 стр. 1; доцент департамента молекулярной и биологической физики МФТИ; 141701, Россия, г. Долгопрудный, пер. Институтский, д. 9; ORCID iD 0000-0002-9622-3457.

**Попов Игорь Алексеевич** — к.ф.-м.н., доцент, руководитель лаборатории трансляционной медицины ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России; 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, д. 2; руководитель лаборатории молекулярной медицинской диагностики МФТИ; 141701, Россия, г. Долгопрудный, пер. Институтский, д. 9; ORCID iD 0000-0002-5904-2470.

**Контактная информация:** Крылова Анна Андреевна, e-mail: [krilovane@yandex.ru](mailto:krilovane@yandex.ru).

**Прозрачность финансовой деятельности:** никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

**Конфликт интересов отсутствует.**

**Статья поступила** 05.09.2022.

**Поступила после рецензирования** 26.09.2022.

**Принята в печать** 17.10.2022.

**ABOUT THE AUTHORS:**

**Anna A. Krylova** — C. Sc. (Med.), associate professor of the Department of Ophthalmology, Siberian State Medical University; 2, Moskovskiy tract, Tomsk, 634050, Russian Federation; ORCID iD 0000-0001-8009-6302.

**Anna V. Zakharchuk** — clinical resident of the Department of Ophthalmology, Siberian State Medical University; 2, Moskovskiy tract, Tomsk, 634050, Russian Federation; ORCID iD 0000-0002-9906-8202.

**Olga I. Krivosheina** — Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Ophthalmology, Siberian State Medical University; 2, Moskovskiy tract, Tomsk, 634050, Russian Federation; ORCID iD 0000-0001-7509-5858.

**Stanislav I. Pekov** — C. Sc. (Chem.), researcher of the Laboratory of Mass Spectrometry, Skolkovo Institute of Science and Technologies; 30, bldg. 1, Bolshoy Blv., Moscow 121205, Russian Federation; Associate Professor of the Department of Molecular and Biophysics, Moscow Institute of Physics and Technology; 9, Institutsky Lane, Dolgoprudny, 141701, Russian Federation; ORCID iD 0000-0002-9622-3457.

**Igor A. Popov** — C. Sc. (Phys.-Math.), Associate Professor, Head of the Laboratory of Translational Medicine; Siberian State Medical University; 2, Moskovsky Highway, Tomsk, 634050, Russian Federation; Head of the Laboratory of Molecular Medical Diagnostics, Moscow Institute of Physics and Technology; 9, Institutsky Lane, Dolgoprudny, 141701, Russian Federation; ORCID iD 0000-0002-5904-2470.

**Financial Disclosure:** no authors have a financial or property interest in any material or method mentioned.

**There is no conflict of interest.**

**Received** 05.09.2022.

**Revised** 26.09.2022.

**Accepted** 17.10.2022.